

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1899-1900. — N° 45

---

TRAVAUX DU LABORATOIRE DE MÉDECINE EXPÉRIMENTALE

---

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'IMMUNISATION RAPIDE  
DES  
ANIMAUX PRODUCTEURS  
DU  
SÉRUM ANTIDIPHTÉRIQUE

---

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 15 Décembre 1899

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

**Gaston ANTOINE**

*Né à Oran (Algérie)*

Elève de l'Ecole du Service de santé militaire

---

TOULOUSE

IMPRIMERIE LAGARDE & SEBILLE

2, RUE ROMIGUIÈRES, 2

—  
1899







Digitized by the Internet Archive  
in 2026

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'IMMUNISATION RAPIDE  
DES  
ANIMAUX PRODUCTEURS  
DU  
SÉRUM ANTIDIPHTÉRIQUE



FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1899-1900. — N° 45

---

TRAVAUX DU LABORATOIRE DE MÉDECINE EXPÉRIMENTALE

---

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'IMMUNISATION RAPIDE  
DES  
ANIMAUX PRODUCTEURS  
DU  
SÉRUM ANTIDIPHTÉRIQUE

---

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 15 Décembre 1899

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

**Gaston ANTOINE**

*Né à Oran (Algérie)*

Elève de l'Ecole du Service de santé militaire

---

TOULOUSE

IMPRIMERIE LAGARDE & SÉBILLE

2, RUE ROMIGUIÈRES, 2

---

1899



# PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. LORTET..... DOYEN.  
LACASSAGNE..... ASSESSEUR.

## PROFESSEURS HONORAIRES

MM. PAULET, CHAUVEAU, BERNE.

## PROFESSEURS

|                                                      |                |
|------------------------------------------------------|----------------|
| Cliniques médicales.....                             | MM. LÉPINE.    |
| Cliniques chirurgicales.....                         | BONDET.        |
| Clinique obstétricale et Accouchements.....          | OLLIER.        |
| Clinique ophtalmologique.....                        | PONCET.        |
| Clinique des maladies cutanées et syphilitiques..... | FOCHIER.       |
| Clinique des maladies mentales.....                  | GAYET.         |
| Physique médicale.....                               | GAILLTON.      |
| Chimie médicale et pharmaceutique.....               | PIERRET.       |
| Chimie organique et Toxicologie.....                 | MONOYER.       |
| Matière médicale et Botanique.....                   | HUGOUNENQ.     |
| Zoologie et Anatomie comparée.....                   | CAZENEUVE.     |
| Anatomie.....                                        | FLORENCE.      |
| Anatomie générale et Histologie.....                 | LORTET.        |
| Physiologie.....                                     | TESTUT.        |
| Pathologie interne.....                              | RENAUT.        |
| Pathologie externe.....                              | MORAT.         |
| Pathologie et Thérapeutique générales.....           | TEISSIER.      |
| Anatomie pathologique.....                           | AUGAGNEUR.     |
| Médecine opératoire.....                             | MAYET.         |
| Médecine expérimentale et comparée.....              | TRIPPIER.      |
| Médecine légale.....                                 | POLLOSSON (M.) |
| Hygiène.....                                         | ARLOING.       |
| Thérapeutique.....                                   | LACASSAGNE.    |
| Pharmacie.....                                       | BARD.          |
|                                                      | SOULIER.       |
|                                                      | CROLAS.        |

## PROFESSEUR ADJOINT

Clinique des Maladies des Femmes..... LAROYENNE.

## CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

|                                                 |                |        |
|-------------------------------------------------|----------------|--------|
| Clinique des Maladies des Enfants.....          | WEILL          | agrégé |
| Maladies des oreilles, du nez et du larynx..... | LANNOIS        | —      |
| Accouchements.....                              | POLLOSSON (A.) | —      |
| Propédeutique médicale.....                     | ROQUE          | —      |
| Propédeutique chirurgicale.....                 | GANDOLPHE.     | —      |
| Botanique.....                                  | BEAUVISAGE.    | —      |

## AGRÉGÉS

|                |           |         |                 |
|----------------|-----------|---------|-----------------|
| MM.            | MM.       | MM.     | MM.             |
| BEAUVISAGE.    | COURMONT. | VALLAS. | PAVIOT.         |
| ROUX.          | DEVIC.    | SIRAUD. | NOVE-JOSSERAND. |
| POLLOSSON (A.) | COLLET.   | DURAND. | BLERARD.        |
| ROCHET.        | BOYER.    | DOYON.  | SAMBUC.         |
| ROLLET.        | BARRAL.   | PIC.    | BORDIER.        |
| CONDAMIN.      | MOREAU.   |         |                 |

M. BEAUDUN, Secrétaire.

## EXAMINATEURS DE LA THÈSE

M. ARLOING, *Président*; M. ROUX, *Assesseur*;  
MM. COURMONT et SIRAUD, *Agrégés*.

*La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.*

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

*Affectueuse reconnaissance.*

---

A MA SŒUR

---

A MON FRÈRE

*Aux conseils de qui je dois d'être entré  
dans la Médecine militaire.*

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur ARLOING

---

A MONSIEUR LE DOCTEUR NICOLAS

Chef adjoint des Travaux au Laboratoire de Médecine expérimentale

*Nous considérons comme un devoir bien doux d'adresser, en tête de ce modeste travail, un témoignage public de reconnaissance à :*

*M. le Professeur Arloing, qui, après nous avoir inspiré le sujet de notre thèse, nous a permis d'y travailler pendant les deux années passées à son laboratoire, et a su par ses savantes leçons nous attacher avec ferveur à ce Maître éminent ;*

*M. le docteur Nicolas, chef adjoint des travaux, qui nous a prodigué ses excellents enseignements, souvent au détriment de son travail personnel, avec une générosité et une affabilité dont nous avons presque abusé pour le bien de notre thèse. Sa compétence indiscutable dans la question de la diphtérie et de son sérum a été notre plus précieux auxiliaire ;*

*M. le Professeur Teissier, notre Maître en clinique médicale, dont nous avons pu apprécier la proverbiale bonté ;*

*M. le Professeur agrégé Siraud, qui nous a toujours honoré de son obligeante amitié ;*

*M. le médecin-inspecteur et M<sup>me</sup> Kelsch, pour l'accueil qu'ils ont bien voulu nous faire à maintes reprises ;*

*Nos chefs militaires de l'Ecole et de l'Hôpital d'instruction Des Genettes, en particulier MM. les médecins-majors Bernard, Marcus et Patte ;*

*Nos amis enfin, parmi lesquels je veux citer les noms du D<sup>r</sup> Goubert, du D<sup>r</sup> Demanneville, mon compatriote, et du D<sup>r</sup> Félix Badie, dont je n'oublierai jamais les solides qualités et le charmant caractère.*

G. A.

---

## CHAPITRE PREMIER

### Historique.

On pourrait dire avec juste raison que c'est à M. le professeur Chauveau que revient le grand mérite d'avoir jeté les premières bases de nos connaissances sur la transmission possible de l'immunité, par le passage de la liqueur sanguine d'un animal malade et guéri, à un sujet sain.

Dès 1879, il émit, au sujet de l'immunité, des idées que l'état actuel de nos connaissances a pleinement justifiées. Une série d'observations et d'expériences sur le charbon permirent à ce savant de conclure « que la partie liquide du sang, débarrassée de bacilles virulents, mais chargée des produits de la virulence, peut créer l'immunité (1). » En effet, si à des brebis en état de gestation on inocule du charbon, leurs rejetons pourront se montrer réfractaires à la maladie, car le plasma de la mère transmet au fœtus, à travers le placenta, pendant la vie intra-utérine, les qualités qu'il possède. M. Chauveau affirmait par là la transmission

(1) Arloing. *Sérumthérapie et Diphtérie*. Discours prononcé à l'Académie des sciences, arts et belles-lettres de Lyon, en 1895.

de l'immunité par la partie liquide du sang, les particules solides étant arrêtées par la barrière placentaire. Aussi, en 1881, il put schématiser sa pensée dans le discours qu'il prononça à Alger, à l'ouverture du *Congrès de l'Association française pour l'avancement des sciences*, en plaçant les paroles suivantes dans la bouche d'une mère parlant à son enfant : « Tu partages mon sang et ma vie ; je te donne ma vigueur et ma beauté, les qualités qui ornent mon cœur et mon intelligence. Des maladies qui s'abattront sur moi, tu tireras parfois un principe de résistance aux effets de la contagion à laquelle tu seras exposé plus tard, quand tu jouiras de ta vie propre. Pour t'assurer cette préservation, je pourrai même courir au-devant du mal et rechercher volontairement l'inoculation infectieuse qui te procurera par mon intermédiaire le précieux bénéfice de cette immunité. »

Ainsi, M. Chauveau traçait le premier jalon dans la voie des découvertes qui devaient amener la création de la sérumthérapie.

A ces premières observations vinrent bientôt se joindre de nouveaux faits. Toussaint (1) a obtenu l'immunisation des moutons par le sang de sujets charbonneux. Maurice Raynaud montre que l'injection d'une certaine quantité de sang ou de lymphé d'une génisse, sept ou huit jours après le début de l'éruption vaccinale, est capable de conférer l'immunité contre la vaccine à un autre animal. Richet (2) réussit à pré-

(1) Toussaint. *Etude sur la maladie charbonneuse*, 1858.

(2) Richet. *Archives de Médecine expérimentale*, 1888.

server un lapin contre l'action d'un agent pyoseptique en lui injectant du sang d'un chien rendu réfractaire à l'action de ce microbe. Mais c'est à Behring et Kitasato que revient le mérite d'avoir fait faire le plus grand pas à la question.

En 1890, Behring et Kitasato (1) découvrent qu'on peut transmettre aux animaux l'immunité contre le tétanos par l'injection de sérum du sang d'animaux immunisés.

La même année, Behrnig constate le même fait pour le sérum d'animaux immunisés contre la diphtérie. Et il cherche bientôt à traiter et à guérir la diphtérie humaine par les injections de ce sérum.

La sérothérapie de la diphtérie entraînait dès lors dans les procédés thérapeutiques; toutefois, ce fut surtout depuis les travaux de Roux et Martin (2) que cette méthode de traitement commença à prendre son plein essor.

Aujourd'hui, les résultats que l'on peut en attendre ne sont plus à discuter. Toutes les statistiques prouvent, de la façon la plus évidente, que la mortalité par diphtérie qui, avant la sérothérapie, s'élevait d'une façon à peu près uniforme à 60 ou 70 % des malades atteints, est, à l'heure actuelle, tombée au chiffre de 25, 15, 10 et même 5 % seulement, suivant les différents auteurs.

Tout ce qui touche aux moyens par lesquels on peut produire, dans les conditions les meilleures et les

(1) Behring et Kitasato. *Deutsch. med. Woch.*, 1890.

(2) Roux et Martin. *Annales de l'Institut Pasteur*, septembre 1894.

plus rapides, un sérum antidiphthérique suffisamment actif, mérite donc l'attention des expérimentateurs. Or, en ce qui concerne notamment le sérum antidiphthérique, que nous aurons particulièrement en vue dans ce travail, mais qui vraisemblablement peut se trouver applicable à d'autres sérums antitoxiques ou préventifs déjà connus ou restant à découvrir, la préparation de cet agent thérapeutique n'est pas sans quelques difficultés.

Différents procédés ont été utilisés dans le but d'amener les animaux au degré d'immunisation suffisante pour que leur sérum ait une réelle efficacité. On a eu recours aux injections de *cultures complètes*, à doses progressivement croissantes, de l'agent pathogène ; on a eu recours aux injections, à doses progressivement croissantes encore, de cultures du bacille de Loeffler, autrement dit de *toxine diphthérique*. Mais les accidents produits par les cultures virulentes ou ceux causés par la toxine ainsi utilisée furent tels, qu'il était à peu près impossible de poursuivre pendant un temps suffisant les injections chez les animaux, sans amener leur mort. Il fallut donc recourir à des procédés permettant d'atténuer la virulence des cultures ou de diminuer la toxicité des produits filtrés avant de procéder aux injections.

Karl Frœnkel (1), dans ce but, soumet les cultures virulentes, avant l'injection, à un chauffage préalable à 65 ou 70°. Les animaux supportèrent mieux les inocula-

(1) *Berliner Klin-Wochensch.*, 1890.

tions, mais néanmoins les accidents ne furent pas totalement supprimés. Behring, s'adressant aux toxines, chercha à en diminuer la toxicité par l'addition de trichlorure d'iode. Brieger, Kitasato et Wassermann, proposèrent l'addition aux toxines d'une certaine quantité d'extrait de thymus, et le chauffage à 65°. Mais, là encore, au cours de ces différentes tentatives faites sur des lapins et des cobayes, les accidents ne furent pas rares.

Cependant, dans quelques cas, on peut obtenir, même par les moyens mentionnés ci-dessus, des résultats assez satisfaisants. C'est ainsi que Bardach et Aronson (1) ont pu immuniser des chiens par des injections de cultures vivantes à doses faibles et rapidement croissantes, et obtenir ainsi un sérum dont le pouvoir préventif était relativement considérable, puisqu'il immunisait jusqu'à 2000 et 4000 fois son poids de cobaye.

Mais d'une façon générale cette méthode d'immunisation demande de très grandes précautions, et souvent les animaux périssent avant que leur sérum ait atteint un degré notable d'immunité. Il faut reconnaître d'ailleurs que les animaux employés dans ces diverses expériences présentaient une susceptibilité assez grande à l'égard de l'intoxication diphtérique. Les chiens et les lapins notamment supportent en effet très mal, malgré toutes les précautions que l'on puisse prendre, des doses même très faibles. Aronson a préparé un réel progrès en préconisant l'emploi du cheval, dont la

(1) *Berliner Klin-Wochens.*, 1890.

susceptibilité est beaucoup moindre et qui d'autre part peut fournir des quantités plus considérables d'un sérum moins toxique que celui de la plupart des autres animaux.

En France, divers essais furent tentés dans cette même direction. Koudrevetzki (1) cherche à immuniser des chiens au moyen du poison diphtérique. Il essaye d'atténuer la virulence de la toxine par l'addition de différentes substances; au trichlorure d'iode employé par Behring, à l'extrait de thymus employé par Brieger, Kitasato et Wassermann, il substitue l'eau iodée, la liqueur de Lugol ou de Gram, l'ozone, le permanganate de potassium. Il tente, d'autre part, devant les dangers des injections faites dans le tissu cellulaire, de faire pénétrer les toxines par le *tube digestif*, espérant ainsi obtenir une action immunisante, notable, avec des réactions moins vives. Les résultats furent des moins satisfaisants. Cela n'a pas lieu de nous étonner, puisque nous savons aujourd'hui, depuis les travaux de Charrin, Charrin et Cassin, Charrin et Lefèvre, de Gibier, de Ransom, de Carrière, etc... que les toxines introduites par le tube digestif sont absolument modifiées et rendues inoffensives pour l'organisme, à des doses infiniment supérieures à celles qui suffisent à déterminer la mort quand on utilise les voies sous-cutanées ou intra-veineuses, à moins de solution de continuité de la muqueuse. Il n'y a donc rien de surprenant à ce que des toxines aussi altérées dans leurs qualités soient devenues incapables de conférer l'immunité aux animaux à qui on les fait ingérer.

(1) Koudrevetzki, *Arch. méd. expér.*, novembre 1893.

Sur une chèvre, le même auteur essaya les inoculations successives de cultures filtrées et chauffées à 63 et 70° pendant une heure; puis les injections de cultures filtrées et traitées par le trichlorure d'iode; enfin de cultures filtrées sans addition d'aucune substance. En même temps, cet animal absorbait, pendant plusieurs jours, mêlées à ses aliments, des cultures de bacille de Loeffler, à la dose de 100 à 150 cc. par repas. Au bout de quatre mois et demi, son sérum présentait une activité préventive notable à l'égard des cultures filtrées, mais assez faible vis-à-vis des cultures virulentes.

Telles étaient les connaissances diverses acquises sur les moyens d'immunisation des animaux, sur les résultats que l'on pouvait en espérer au point de vue de la production d'un sérum immunitisant contre la diphtérie, lorsque survint la retentissante communication de *MM. Roux et Martin* au congrès de Budapesth. Pour immuniser leurs animaux, ces auteurs se sont servis de toxines additionnées au début de liqueur iodo-iodurée, dont on diminuait progressivement la proportion, de manière à arriver insensiblement à la toxine pure.

Ils se sont adressés d'abord au lapin, puis au mouton, à la chèvre, à la vache, à l'âne, et enfin au cheval, auxquels ils ont reconnu toutes les qualités de résistance que lui avaient attribuées Aronson.

Le cheval réagit relativement peu sous l'influence des injections, et néanmoins peut acquérir une très grande activité préventive. *MM. Roux et Martin* ont pu assez rapidement faire supporter à des chevaux des

doses de toxine allant jusqu'à 800 cc. Cependant il ne faudrait pas croire qu'on pût agir ainsi absolument en toute sécurité. Tous les animaux ne se comportent pas exactement de même façon vis-à-vis du poison diphtérique. Et si quelques-unes ne réagissent que faiblement après chaque inoculation, il y en a d'autres qui présentent des réactions très accusées et même des accidents plus ou moins graves pouvant aller jusqu'à la mort.

C'est ainsi que M. Roux cite le cas d'un cheval qui, immédiatement après l'opération, pris de crampes, chancela sur ses membres postérieurs; pendant une minute ou deux il fallût le soutenir. Il suait abondamment, son poulx était petit, mais au bout de quelques instants tout rentra dans l'ordre. Le soir, la température était élevée, l'appétit très diminué, le lendemain le cheval était en parfaite santé.

Chez d'autres animaux, la réaction est beaucoup plus intense. Les moutons, et surtout les chèvres, sont extrêmement sensibles au poison diphtérique. Celles-ci tombent souvent dans un état d'amaigrissement, de cachexie extrêmes, bien que leur sérum soit préventif pour le cobaye. Les vaches ne sont pas moins sensibles, et Nocard a cité le cas d'un de ces animaux, qui a succombé en cours d'immunisation à la suite d'une injection de 5 cc. de toxine. A l'autopsie, on a trouvé, entre les lésions locales étendues, une néphrite parenchymateuse très prononcée. L'âne peut succomber également à la suite d'injections relativement faibles de toxine.

Tous ces faits prouvent jusqu'à l'évidence combien on peut rencontrer de difficultés dans l'immunisation

des animaux destinés à fournir du sérum antidiphthérique. Les méthodes précédemment indiquées et utilisées par les différents auteurs, présentent donc un certain danger. Ce n'est qu'avec une extrême prudence et par suite une grande lenteur que l'on peut aller dans la progression des doses de toxine. On se trouve donc en présence d'une double difficulté : d'une part, les dangers que présentent les procédés d'immunisation, et secondement la longue durée de temps indispensable pour arriver à produire celle-ci sans accidents.

Il serait donc fort utile de doter les expérimentateurs d'une méthode qui leur permit d'agir en toute sécurité, et avec une plus grande rapidité. Il pourrait être indispensable, en effet, de se procurer à bref délai à un moment donné des quantités considérables de sérum, la nécessité de parer à des cas urgents ne permettant pas d'attendre de longs mois l'immunisation complète d'animaux neufs.

N'avons-nous pas précisément entre les mains, avec le sérum antidiphthérique d'un animal préalablement immunisé, le moyen de faire supporter impunément et très rapidement à des animaux vierges, des doses de toxine diphthérique capable de leur donner une *immunité active* suffisante.

En d'autres termes, en conférant à ces derniers une *immunité passive*, n'arriverait-on pas à leur injecter, dans un très bref délai, des quantités énormes de poison diphthérique et leur faire acquérir ainsi l'*immunité active* que l'on recherche ?

M. Arloing avait eu la pensée de diriger des expériences dans ce sens, mais les seuls travaux accomplis

qui soient parvenus à notre connaissance, sont ceux de M. Babès (1), de Bukarest. Cet auteur a prétendu, grâce aux injections simultanées de sérum antidiphtérique et de toxine, atteindre ce résultat. C'est dans le but de vérifier ce que l'on était en droit d'attendre de cette méthode que nous avons entrepris nos travaux. Nous pouvons dire dès maintenant qu'ils ne paraissent pas pleinement confirmer, au point de vue théorique pur, ceux de M. Babès. Nous aurons l'occasion de discuter cette question au cours de notre étude, et nous n'y insistons pas pour le moment.

Mais avant d'aborder plus spécialement ce point, nous croyons intéressant de consacrer d'abord un chapitre à un certain nombre de faits et d'observations que nous avons pu recueillir, et montrant bien les difficultés avec lesquelles on se trouve aux prises au cours des essais d'immunisation par la toxine diphtérique et aussi tous les dangers qu'elle peut présenter. Ce sera ainsi, nous semble-t-il, joindre aux faits que nous avons rapportés dans notre historique, des éléments nouveaux montrant l'utilité qu'il y aurait à trouver une méthode d'immunisation donnant plus de sécurité à l'expérimentateur.

(1) Babès. *Académie de Médecine*, 1896.

## CHAPITRE II

### Difficultés de l'immunisation des animaux par la toxine diphtérique pure, ou associée à la liqueur de Gram.

Les faits que nous avons à rapporter dans ce chapitre doivent parler surtout par eux-mêmes. Aussi nous contenterons-nous de rapporter brièvement les observations de quelques animaux, dont la mort est survenue au cours de l'immunisation. La première de ces observations concerne une jument destinée à la préparation du sérum antidiphtérique, et qui mourut au bout de deux mois, après avoir reçu dix injections de toxine.

#### OBSERVATION DE LA JUMENT MOYNE

La jument qui fait l'objet de cette observation est vigoureuse, en bonne santé apparente. La température, prise pendant plusieurs jours avant les injections, est normale. Le 24 décembre 1894, elle reçoit dans le tissu cellulaire lâche, en arrière de l'épaule gauche, une injection de 3<sup>cc</sup> de malléine qui n'est suivie d'aucune réaction thermique; il apparaît seulement au point d'inoculation une tuméfaction molle, grosse comme un œuf de pigeon, dont la palpation

est douloureuse et qui rétrocede dans les 24 heures. On laisse reposer la jument pendant 48 heures.

27 décembre. — **Première injection** de toxine B, du 15 décembre : 1<sup>cc</sup> additionné de 1/2<sup>cc</sup> de liqueur de Gram. Le lendemain, tuméfaction locale, molle et douloureuse ; la température monte à 40°, ensuite à 39,5 ; l'animal est triste, ne mange pas.

29 décembre. — Tuméfaction saillante et douloureuse de 20 à 25 centimètres de diamètre au point d'inoculation, en arrière de l'épaule droite. T. matin, 39,2 ; soir, 39.

30 décembre. — Tuméfaction locale à peu près disparue, mais énorme gonflement douloureux du deuxième segment de membre antérieur. T. matin, 38,6 ; soir, 38,5.

31 décembre. — **Deuxième injection** de toxine B, du 19 décembre. 1<sup>cc</sup> de liqueur de Gram. T. matin, 38,2 ; soir, 38,3.

1<sup>er</sup> janvier. — Matin, 39,1 ; soir, 38,2.

2 janvier. — Encore un gonflement notable de l'épaule du côté inoculé avant hier. Un peu de gonflement mou au point d'inoculation. T. matin, 38,2 ; soir 38.

3 janvier. — T. matin, 38,3 ; soir, 38. — **Troisième injection**, même toxine, 1<sup>cc</sup> + 1/2<sup>cc</sup>.

4 janvier. — Tuméfaction étendue et douloureuse. T. matin, 39,6 ; soir, 39.

5 janvier. — T. matin, 38,9 ; soir, 38,6. — **Quatrième injection**, même toxine. 1<sup>cc</sup> + 1/4 de <sup>cc</sup> de liq. de Gram.

6 janvier. — Tuméfaction douloureuse considérable. T. matin, 39,5 ; soir, 39.

7 janvier. — **Cinquième injection**. Toxine B, filtrée aujourd'hui, 1<sup>cc</sup> pure. T. matin, 38,6 ; soir, 38,4.

8 janvier. — Tuméfaction très considérable s'étendant au loin. T. matin, 40 ; soir, 39,7.

9 janvier. — Le cou est très tuméfié, l'animal est triste, ne mange pas, mauvais état. T. matin, 39,5 ; soir, 39,7.

10 janvier. — Toujours assez malade, ne mange pas, triste. Œdèmes durs, considérables, au cou, au poitrail, au ventre. La gorge est comprimée. T. matin, 39 ; soir 38,5.

11 janvier. — Deux plaques nécrosées au niveau des deux dernières injections. On note, en outre, au niveau d'une ancienne injection, une lésion écailleuse ressemblant vaguement à de la tricophytie. T. matin, 38,7 ; soir, 38,3.

12 janvier. — T. matin, 38,3 ; soir, 38.

13 janvier. — T. matin, 38,1 ; soir, 38,5. Présente toujours une éruption impétigineuse au point des deux dernières inoculations. Le gonflement du cou et de la région parotidienne diminue. Il persiste une trainée dure, le long de la jugulaire jusqu'au poitrail.

14 janvier. — T. matin, 38,3 ; soir, 38,4.

15 janvier. — Toujours la même éruption et des plaques énormes, indurées, au cou. T. matin, 38,2 ; soir, 38,4.

16 janvier. — T. matin, 38,6 ; soir, 38,2.

17 janvier. — **Sixième injection.** Toxine B, du 7 janvier. 1<sup>re</sup> pur. T. matin, 37 ; soir, 38,2. Assez bon état général ; les lésions sont en voie de guérison.

18 janvier. — Tuméfaction dure, douloureuse, large comme deux mains au point d'inoculation. Gonflement du poitrail du même côté. Triste, ne mange pas. T. matin, 39,3 ; soir, 39,1.

19 janvier. — Œdème volumineux et douloureux ; toujours des croûtes sur les anciennes injections. Mauvais état général. T. matin, 39,2, soir, 39.

20 janvier. — T. matin, 38,4 ; soir, 38,1. — 21 janvier. — T. matin, 37,8 ; soir, 38,2. Toujours œdème localisé. — 22 janvier. — T. matin, 38,2 ; soir, 38,5.

23 janvier. — T. matin, 38,4 ; soir 38,3. Poitrail et racine du cou encore tuméfiés. — **Septième injection.** 1/2<sup>cc</sup> de même toxine.

24 janvier. — A très peu réagi localement et généralement. T. matin, 38,5, soir, 38,6.

25 janvier. — Bon état général. T. matin, 38,6 ; soir, 38,5. — **Huitième injection.** 1<sup>re</sup> même toxine.

26 janvier. — Etat général très atteint ; l'animal ne mange pas ; il présente au point d'injection une volumineuse tuméfaction. T. matin, 38,7 ; soir, 38,5.

27 janvier. — L'état général est meilleur. L'animal a mangé d'assez bon appétit. La tuméfaction locale s'est encore accusée. Gonflement énorme de tout le flanc injecté jusqu'à la partie déclive de l'abdomen. Pas d'injection. T. matin, 38,6 ; soir, 38,5.

28 janvier. — Gonflement un peu moindre quoiqu'encore très accusé, étendu à tout le flanc droit. T. matin, 38,6 ; soir, 38,4 — Etat général meilleur.

29 janvier. — Gonflement toujours volumineux du flanc droit, moindre au cou. T. matin, 38,3 ; soir, 38,5.

**Neuvième injection.** — 1 cc. toxine filtrée le 19 janvier.

30 janvier. — On ne constate qu'une tuméfaction peu développée encore au point d'inoculation. L'animal ne mange pas, T. matin, 39°, 3, soir, 39.

31 janvier. — La réaction locale a été beaucoup moins intense que jusqu'à présent. L'animal mange ce matin. Aussi fait-on la **dixième injection**. 1 cc. toxine B filtrée le 19 janvier. T. matin, 38,8 ; soir, 38,7.

1<sup>er</sup> février. — Du côté de la dernière injection, œdème énorme, envahissant tout le flanc. L'animal ne mange pas, il est faible et abattu. T. matin, 39,2 ; soir, 38,9.

2 février. — Etat toujours grave. Pas d'appétit. Œdème énorme du flanc injecté. Pas d'injection, T. matin, 38,6 ; soir, 38,6.

3 février. — Même état ; pourtant la jument a mangé ce matin son avoine. T. matin, 38,9 ; soir, 38,7.

4 février. — Etat général toujours mauvais, avec gonflement énorme du flanc gauche. Ne mange pas, maigrit. T. matin, 38,1 ; soir, 38,3.

5 février. — Etat toujours le même ; l'œdème commence à diminuer, mais toujours pas d'appétit. Faiblesse très marquée. Amaigrissement notable. T. matin, 38,4 ; soir, 38,4.

6 février. — Etat toujours assez mauvais. La jument ne mange plus du tout. On a essayé en vain le pain, le miel, le son vinaigré. T. matin, 37,9 ; soir, 38,2.

7 février. — Etat stationnaire, pas d'injection. L'amaigrissement s'accuse beaucoup, surtout maintenant que l'œdème du flanc commence à disparaître. T. matin, 38 ; soir, 38,4.

9 février. — Même état. T. matin, 37,6 ; soir, 37,9. — 10. — Toujours très malade ; amaigrissement extrême. Ne se nourrit pas. T. matin, 38,6 ; soir, 38.

11 février. — L'état général s'aggrave, la jument paraît extrêmement faible ; c'est à peine si elle peut se tenir sur ses jambes. Elle se couche fréquemment et on a beaucoup de peine à la faire relever. Pas d'atrophie musculaire marquée en dehors de l'amaigrissement général. T. matin, 37,5 ; soir, 38.

12 février. — Même état. Alimentation nulle. La faiblesse est extrême, surtout du côté des membres postérieurs. T. matin, 37,7 ; soir, 38.

13 février. — Ce matin, la jument s'étend sur le flanc, avec une dyspnée assez intense ; elle se débat avec violence. La mort a lieu environ six heures plus tard, c'est-à-dire vers 2 heures de l'après-midi.

*Autopsie faite immédiatement après la mort.* — Malgré l'amaigrissement apparent assez accusé, on constate encore un développement assez considérable du tissu graisseux sous-péritonéal et épiloïque. Rien d'anormal, au premier abord ; du côté de l'intestin, couleur normale, on ne constate pas d'hémorragie. Les poumons, emphysémateux, présentent un piqueté hémorragique peu abondant. Pas d'épanchement pleural. Le poumon du côté sur lequel l'animal était couché au moment de sa mort est très congestionné. Epanchement péricardique assez abondant ; près d'un litre ; aspect inflammatoire, dépoli, pseudo-membraneux de la séreuse. Cœur très volumineux. Pas de lésions valvulaires ni aortiques. Quelques taches purpuriques sur le myocarde ou sous la séreuse viscérale. Rate volumineuse ; périsplénite assez intense, chronique. Foie normal. Reins à peu près normaux.

La lecture de cette observation, dans ses détails, donne une idée exacte des difficultés que l'on peut rencontrer et des précautions avec lesquelles on doit agir. Voici un animal, bien portant en apparence, qui, en l'espace d'un mois et quelques jours, a reçu dix injec-

tions représentant ensemble une dose de 9 cc. et 1/2 de toxine diphtérique additionnée, pour les quatre premières injections, d'une certaine quantité de solution iodo-iodurée. Or, bien que l'on eût pris soin d'attendre que les réactions locales et générales, survenant après chaque injection, aient disparu pour pratiquer l'injection suivante, nous voyons, après la dixième injection, c'est-à-dire l'injection du 9<sup>m</sup>e cc. et 1/2, l'animal présenter une aggravation progressive de l'état général, avec perte de l'appétit, amaigrissement, sans élévation notable de la température, et aboutissant finalement, treize jours plus tard, à la mort du sujet.

L'autopsie a révélé que cette jument ne présentait pas de lésions antérieures ayant pu amener la mort. Seules, quelques taches ecchymotiques, réparties sur les poumons et les plaies, et accompagnées d'un épanchement péricardique, ont accompagné les accidents ultimes, révélant par là même leur nature toxi-infectieuse. On sait, en effet, quelle est la fréquence des épanchements péricardiques ou pleuraux dans la mort causée par les toxines du bacille de Lœffler.

A cette première observation, nous pouvons en joindre quelques autres. Nous rapporterons ici celles de *cinq chiens*, que nous avons vainement cherché à immuniser au moyen d'injections sous-cutanées de toxine diphtérique, soit pure, soit additionnée de solution iodo-iodurée.

*Chien I*, 7 kilos, 26 mai. — Reçoit sous la peau 1/10 cc. par kilogramme de toxine tuant le cobaye à cette dose en 37 heures, soit en tout : 0 cc. 7/10.

27 mai : T. 37,5, 38,4. 28 mai : 37, 36,6. 29 mai : 37,2, 37,5. 30 mai : 37,5, 38,2. 31 mai : 37,8, 38,3. 1<sup>er</sup> juin : 38, 38,5. 2 juin : deuxième injection sous-cutanée de 2/10 cc. de toxine par kilogramme, soit : 1 cc. 4 en tout. T. 38, 38,4. 3 juin : T. 39,2, 39,2. Rougeur intense et gonflement douloureux au point d'inoculation. 4 juin : 39, 39,3. 5 juin : 39,1, 38,8. L'animal paraît très mal, la cuisse est tuméfiée, violacée, avec tendance au sphacèle, état général grave ; le 6 juin : mort de l'animal en onze jours.

*Autopsie* : congestion hémorragique généralisée typique d'intoxication diphtérique chez le chien.

*Chien II*, 10 kg. 800, 16 juin. — Reçoit 1/10 cc. toxine par kilogramme, soit : 1 cc. 1/10.

La température n'est pas prise, l'animal étant très méchant.

20 juin : l'animal est très abattu, paraît en très mauvais état. 21 juin : T. 37, 37,6. Mort dans la nuit du 21 au 22, en quatre jours.

*Chien III*, 9 kilog., 27 juin. — Injection sous-cutanée 1/20 cc. par kilogramme, soit : 0 cc. 55 en tout. Mort, le 30 juin, en trois jours.

*Chien IV*, 6 kg. 250, 30 juin. — Reçoit 1/40 cc. toxine par kilogramme, soit : 0 cc. 15. 1<sup>er</sup> juillet : T. 38,8, 39,5 2 juillet : 37,6, 39,1. L'animal est triste. 3 juillet : 38,1, 38,1. Toujours abattu. 4 juillet : 38; 38,4. Amélioration très sensible. 5 juillet : 38,2, 38,5, 6 juillet : 38,5, 39,4. L'animal présente une très grosse tuméfaction à la racine de la cuisse inoculée, bien que son état général paraisse assez bas. 7 juillet : 39, 38,6. 8 juillet : 38,2, 38,7. 9 juillet : 38, 38,5. 10 juillet : 38, 38,1. 11 juillet : 38,2, 38,8. L'animal reste couché, très abattu. La cuisse est sphacélée et suppure. 12 juillet : 38,4, 38,6. Mort dans la nuit, en treize jours.

*Chien V*, 5 kg. 700, 17 juillet. — Reçoit dans le tissu cellulaire par kilogramme, 1/40 cc. toxine diphtérique additionnée d'une

quantité égale de solution de Lugol, soit : 0 cc. 14 toxine, 0 cc. 14 de Lugol.

18 juillet : 38,8, 38,6. 19 juillet : 38,1, 38,6. Le 20 juillet : 38,3 38,4. 21 juillet : 38, 38,4. Très bon état général. Pas la moindre tuméfaction au point d'inoculation. Deuxième injection : 0 cc. 25 toxine additionnée de 0 cc. 125 de Lugol. 22 juillet : T. 38,6, 38,5. 23 juillet : 38,7, 38,9. 24 juillet : 38,5, 38,3. 25 juillet : 38, 38. Troisième injection : 0 cc. 50 de toxine + 0 cc. 125 de Lugol. Mort dans la nuit, en huit jours.

Ainsi, voici encore cinq animaux chez lesquels, malgré la faiblesse des doses injectées à quelques-uns, malgré l'atténuation de la toxicité des produits solubles pour les autres au moyen de la liqueur de Gram, nous n'avons pu arriver à éviter les accidents et à produire l'immunité. Tous sont morts plus ou moins rapidement, les uns dès la première injection, les autres peu après la seconde. Chez tous, des accidents très graves se sont produits : l'état général a été fort touché, la fièvre plus ou moins élevée suivant les cas n'a pas tardé à faire place à l'hypothermie terminale, et enfin localement, nous avons assisté aux accidents inflammatoires, œdémateux et nécrotiques, les plus intenses que l'on puisse observer. Enfin, on a pu constater à l'autopsie toutes les lésions généralisées caractéristiques de l'intoxication diphtérique expérimentale chez le chien, bien connus depuis les travaux de MM. Courmont et Doyon (1).

Le rapprochement de nos observations personnelles et de celles que nous avons relatées au cours de notre

(1) *Arch. de physiologie*, 1895.

historique, suffit bien à édifier complètement sur la réalité des difficultés que présente l'immunisation des animaux. Les accidents si graves et même mortels que nous avons observés, malgré la prudence avec laquelle nous avons agi, sont le meilleur témoin de l'utilité qu'il y aurait, ainsi que nous l'avons dit précédemment, à trouver une méthode d'immunisation qui mit l'expérimentateur à l'abri de ces aléas.

Nous allons donc, dès maintenant, et ceci va constituer la suite naturelle de notre travail, chercher à nous rendre compte de la valeur du procédé préconisé par M. Babès, c'est-à-dire de l'intervention du sérum antidiphthérique, associé à la toxine.

Nous avons essayé deux procédés différents et, au cours de nos recherches, nous nous sommes efforcé d'établir qu'elle pourrait être leur valeur, lorsqu'on utilisait comme agent actif d'immunisation, soit la toxine du bacille de Loeffler, soit les cultures virulentes mêmes de cet agent pathogène.

Ces deux procédés diffèrent en somme peu l'un de l'autre. Ils consistaient tous deux dans l'emploi du sérum antidiphthérique comme moyen de permettre l'inoculation aux animaux de quantités notables, et néanmoins inoffensives de toxine ou de culture virulente. Mais ils différaient l'un de l'autre par ce fait que, dans le premier cas, on débutait par l'administration simultanée du sérum préventif et des toxines ou des cultures, puis on continuait en diminuant peu à peu et progressivement les doses de sérum et on arrivait à ne plus donner aux animaux en expérience que de la toxine ou des cultures à l'état isolé.

Dans un deuxième ordre de faits, nous avons cherché à obtenir l'immunité des animaux, non plus en diminuant progressivement les doses de sérum pour arriver à le supprimer totalement, mais en donnant des doses constantes et notables de sérum préventif, et en augmentant au contraire progressivement les doses de toxine et de culture injectées.

Pourrons-nous, par l'un et l'autre de ces procédés, produire une immunité chez les animaux en expérience ? Ce sont les recherches faites à ce sujet que nous allons rapporter maintenant.

### CHAPITRE III

#### **Administration de toxine associée au sérum antidiphthérique à doses progressivement décroissantes.**

Ainsi que nous l'avons exposé à la fin du chapitre précédent, nos premières tentatives ont eu pour objet de voir ce qu'on pouvait obtenir en associant aux injections de toxine diphthérique ou de culture du bacille de Lœffler des doses progressivement décroissantes de sérum antidiphthérique. On cherchait ainsi, grâce à l'adjonction du sérum, à accoutumer l'organisme à supporter dès le début des doses considérables de toxine et de virus qui, dans les conditions normales, eussent été mortelles. En diminuant peu à peu et très progressivement les quantités de sérum, tout en continuant les autres injections, on pouvait supposer que, sous l'influence de ces dernières, l'animal s'immuniserait graduellement au point de supporter rapidement la toxine ou le bacille à l'état pur, et à haute dose, et de fournir bientôt lui-même un sérum dont le pouvoir préventif serait notable. Plusieurs tentatives ont été faites dans ce sens.

Une première expérience a porté sur trois chiens, qui ont reçu successivement, d'abord quatre injections d'un demi centimètre cube de toxine par kilogramme, additionnée successivement de  $1, 1/2$  et  $1/10$  centimètre cube de sérum par kilogramme. Puis ces animaux reçurent ultérieurement  $1/2$ , puis 1 centimètre cube par kilogramme.

Lors de la cinquième injection ( $1/2$  cc. de toxine pure), un chien neutre reçoit la même dose de toxine que les trois animaux précédemment injectés, pour voir si ces derniers ont déjà acquis un certain degré d'immunité. Une saignée faite à l'un des trois chiens nous a renseigné sur la valeur préventive de leur sérum à la suite de ce traitement.

Nous rapportons ici les détails de cette expérience.

#### EXPÉRIENCE I (21 avril 1898)

Je prends trois chiens :

1. Barbillot.
2. Basset.
3. Blanc, oreilles noires.

Ces chiens ont déjà reçu de la toxine sous la peau :  $1/2$  cc. par kgr. et 1 cc. de sérum antidiphthérique, il y a trois semaines. Barbillot, sérum sous la peau (ulcère). — Basset, sérum dans le sang. — Blanc, sérum sous la peau (ulcère). Aujourd'hui, leurs poids et température sont :

1. — 13 kilos. —  $38^{\circ}9$ .
2. — 10 kilos. —  $38,4$ .
3. — 7 kilos. —  $38,7$ .

Ils reçoivent sous la cuisse un mélange de toxine (1) et de sérum (2), à raison de  $1/2$  cc. de toxine et 1 cc. de sérum par kgr. de poids vif. Les températures deviennent :

Barbillot : le 22, 39,4 ; le 23, 38,7 ; le 24, 38,9 ; le 25, 38,1 ; le 26, 38,4.

Blanc : 38,4 ; 38,5 ; 38,7 ; 37,9 ; 38,2.

Basset : 38,9 ; 38,6 ; 38,4 ; 38,5 ; 38,3.

Le 26, après avoir pris la température, on injecte sous la peau de ces animaux un mélange de toxine et de sérum à raison de 1 cc. de l'un et de l'autre par kgr. de poids vif.

Barbillot : le 27, 38,8 ; le 28, 38,9 ; le 29, 38,8 ; le 30, 39,3 ; le 1<sup>er</sup> mai, 38,9 ; 2 mai, 38,7.

Blanc : 38,5 ; 38,4 ; 39,2 ; 39,8 ; 39,6 ; 39,6.

Basset : 38,6 ; 38,7 ; 40,1 ; 40,4 ; 40,2.

Le 30, injection de 1 cc. toxine et 1/4 cc. sérum par kgr. La chienne Basset a présenté un assez vaste abcès au point d'inoculation, auquel il faut attribuer l'élévation de température. Il est ouvert le 1<sup>er</sup> mai ; amélioration très rapide.

Tempér. de Barbillot : le 3 mai, 39,1 ; le 4, 40, 4 ; le 5, 39,3. Basset : 38,1 ; 38,1. — Blanc : 38 ; 38,1.

Le 4 mai on fait une injection à tous à raison de 1 cc. de toxine par kgr. de poids vif associé à 1/10 cc. de sérum par kgr.

Le 6 mai, les chiens pèsent :

|                    |         |
|--------------------|---------|
| Barbillot. . . . . | 14 Kgr. |
| Blanc . . . . .    | 12 »    |
| Basset. . . . .    | 9 »     |

Températures :

Barbillot : le 6 mai, 39,4 ; le 7, 40,4 ; le 8, 40,2 ; le 9, 38,1.

Basset : 38,8 ; 39,8 ; 39,4 ; 38,9.

Blanc : 38,7 ; 39,2 ; 39,1 ; 39.

Le 9, on injecte à tous les trois et à un chien noir (8 kgr.) témoin 12 cc. de toxine pure par kgr.

Températures :

Barbillot : le 10, 38,1 ; le 11, 37,6 ; le 12, 38,2 ; le 13, 38 ; le 14, 38,7 ; le 15, 38,2 ; le 16, 38,6 ; le 17, 38,5.

Basset : 38,5 ; 37,9 ; 38,2 ; 39,8 ; 39,6 ; 39 ; 39,2 ; 39,5.

Blanc : 38,7 ; 38,1 ; 38,3 ; 38,2 ; 39,2 ; 39,5 ; 38,5 ; 38,8.

Noir témoin : 39 ; 37,2 ; 37,4. Ce chien meurt dans la nuit du 12 au 13.

Les trois premiers chiens sont aussi alertes que si on ne leur avait rien injecté. Pas de réaction locale.

Le 12 mai, on injecte 1 cc. de toxine pure par kgr. à chaque bête. Le chien jaune prend, le 13 et le 14, une grande plaque indurée qu'il attaque avec les dents.

18 mai. — Barbillot et le chien blanc vont à merveille. Le chien basset prend une plaque de nécrose en partie touchée, mais l'état général est très bon.

Ainsi, si nous résumons les différents temps de l'expérience de M. le professeur Arloing, à partir du 21 avril, nous aurons le tableau suivant :

Températures :

|                                                  | Chien Barbillot<br>43 kilos. | Chien Basset<br>10 kilos. | Chien blanc<br>7 kilos. | Chien noir<br>(Térrier)<br>8 kilos. |
|--------------------------------------------------|------------------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------------------|
| Le 21. 1 <sup>re</sup> inject. { 1/2 cc. toxine. | 6 cc. 5                      | 5 cc.                     | 3 cc. 5                 | »                                   |
| par kilog. . . . . { 1 cc. sérum. .              | 43 cc.                       | 10 cc.                    | 7 cc.                   | »                                   |
| Le 26. 2 <sup>me</sup> inject. { 1 cc. toxine. . | 43 cc.                       | 10 cc.                    | 7 cc.                   | »                                   |
| par kilog. . . . . { 1 cc. sérum. .              | 43 cc.                       | 10 cc.                    | 7 cc.                   | »                                   |
| Le 30. 3 <sup>me</sup> inject. { 1 cc. toxine. . | 43 cc.                       | 10 cc.                    | 7 cc.                   | »                                   |
| par kilog. . . . . { 1/4 cc. sérum.              | 3 cc. 25                     | 2 cc. 5                   | 7 cc. 75                | »                                   |
| Le 5. 4 <sup>me</sup> inject. { 1 cc. toxine. .  | 43 cc.                       | 10 cc.                    | 7 cc.                   | »                                   |
| par kilog. . . . . { 1/10 cc. sérum              | 1 cc. 3                      | 1 cc.                     | 0 cc. 7                 | »                                   |
| Le 9. 5 <sup>me</sup> inject. { 1/2 cc. toxine.  | 6 cc. 7                      | 5 cc.                     | 3 cc. 5                 | 4 cc.                               |
| par kilog. . . . . { »                           | »                            | »                         | »                       | meurt<br>3 jours<br>après.          |
| Le 12 mai. 6 <sup>e</sup> inj. { 1 cc. toxine. . | 43 cc.                       | 10 cc.                    | 7 cc.                   | »                                   |
| par kilog. . . . . { »                           | »                            | »                         | »                       | »                                   |
| Total des inject. { de toxine. . . .             | 59 cc. 2                     | 50 cc.                    | 39 cc.                  | 4 cc.                               |
| { de sérum. . . .                                | 30 cc. 55                    | 23 cc. 5                  | 16 cc. 45               |                                     |
| Tous ont bien résisté.                           |                              |                           |                         | Mort.                               |

La lecture du tableau précédent est déjà intéressante. Nous voyons, en effet, un chien neutre succomber rapidement à l'injection d'une dose de toxine qui a été inoffensive pour les trois autres chiens ayant reçu antérieurement des inoculations associées de sérum et toxine. Devons-nous en conclure déjà que la méthode d'association du sérum et de la toxine donne d'excellents résultats? Ce serait vraisemblablement aller trop loin. En effet, il paraît naturel que ces chiens, ayant reçu des doses considérables de sérum (30 cc., 35 cc., 30 cc., 55, 23 cc., 5, 16 cc., 45), aient présenté plus de résistance à l'injection ultérieure de toxine active qu'un animal neuf. Et cela ne nous prouve nullement encore que l'association du sérum et de la toxine aient eu chez eux une action particulièrement favorable. Tout ce que nous pouvons dire, c'est que le sérum, injecté simultanément avec la toxine, a neutralisé les effets nocifs de la toxine. C'est que, en second lieu, les injections répétées de sérum et de toxine ont transmis à ces chiens une immunité relative, puisqu'ils ont résisté, mais sans que nous puissions dire quelle est la part qui revient à chacun de ces éléments dans la création de cet état. Leur immunité a-t-elle été *passive* par le fait du sérum, ou *active* par celui de la toxine, nous n'en savons rien.

Mais du moins le sérum de ces animaux a-t-il acquis lui-même quelques propriétés antitoxiques ou préventives? Les expériences suivantes vont répondre à cette question.

Une saignée a été faite à l'un des trois chiens, et,

à trois reprises, nous avons essayé l'action antitoxique de son sérum sur le cobaye.

**Premier essai** (9 mai).

Deux cobayes de 500 grammes reçoivent :

1° Un 1/2 centimètre cube toxine sous la peau de la cuisse ;

2° L'autre, la même dose de toxine mélangée à une dose égale de sérum du sang du chien Barbillot.

10 mai. — Cobaye 1, a la cuisse énorme très tuméfiée.

Cobaye 2. — Le liquide injecté est complètement résorbé. L'animal va bien.

11 mai. — Cobaye 1, mort à 5 heures du soir.

Cobaye 2, va bien.

12 mai. — Cobaye 2, va toujours bien.

En résumé, le cobaye 1 témoin (toxine pure), mort en 48 heures. Le cobaye 2 (toxine et sérum) survit, sans lésion locale.

**Deuxième essai** (12 mai).

Trois cobayes reçoivent :

1° 1/2 cc. toxine + 1/10 cc. sérum sang Barbillot ;

2° 1/2 cc. toxine + 1/20 cc. —

3° 1/2 cc. toxine + 1/40 cc. —

Le 13 mai. — Les trois cobayes ont une tuméfaction considérable de la mise inoculée, sans grande différence entre eux.

Le 14 mai. — Ils sont vivants, mais paraissent très malades. Le gonflement s'indure sur le cobaye 1. — Mort de ce cobaye dans la soirée.

Le 15 mai. — Mort des deux autres cobayes.

En résumé : Cobaye 1 (1/2 cc. tox. + 1/10 cc. sér.), mort en 48 heures.

Cobaye 2 (1/2 cc. tox. + 1/20 cc. sér.), mort en 3 jours. (Le dernier.)

Cobaye 3 (1/2 cc. tox. + 1/40 cc. sér.), mort en 3 jours.

### Troisième essai (14 mai).

Deux cobayes reçoivent :

1<sup>o</sup> 1/4 cc. toxine + 1/20 cc. sérum du Ch. Barbillot ;

2<sup>o</sup> 1/4 cc. toxine + 1/40 cc. sérum —

Le 15 mai. — Cobaye 1, va bien, presque pas de tuméfaction.

Cobaye 2, cuisse très tuméfiée.

Le 16 mai. — Tuméfaction locale chez les deux cobayes, moindre chez le cobaye 1.

Le 18 mai. — Tuméfaction s'indure chez les deux cobayes, s'étend beaucoup sur le ventre du cobaye 2, avec tendance à la nécrose.

En résumé : Cobaye 1 (1/4 cc. tox. + 1/20 cc. sérum), survie avec réaction locale notable.

Cobaye 2 (1/4 cc. toxine + 1/40 cc. sérum), survie, mais avec réaction locale très intense.

De ces trois essais, le premier et le troisième donnent des résultats assez précis, le second laisse planer un doute. Néanmoins, de leur ensemble nous pouvons conclure que le sérum de nos chiens avait acquis un certain pouvoir antitoxique, mais relativement faible.

De cette expérience il semble donc résulter que l'addition de sérum antidiphtérique à la toxine fabriquée par le bacille de Loeffler permet de faire supporter plus rapidement à des animaux des doses relativement fortes de toxine diphtérique (par rapport à la dose mortelle),

et, d'autre part, permet par suite d'obtenir, plus rapidement chez ces derniers, un sérum capable de transmettre un certain degré d'immunité passive chez des cobayes.

Pourtant une objection vient immédiatement à l'esprit en présence d'une telle interprétation.

En effet, le degré d'immunité qu'ont acquis ces chiens, et le pouvoir immunisant que possède leur sérum est-il en réalité exclusivement le fait des injections répétées de toxine qu'ils ont mieux supportées grâce à l'antitoxine donnée simultanément, ou bien ne pourrait-il pas être simplement la traduction de l'immunité et du pouvoir immunisant transmis à ces animaux par la seule antitoxine? C'était là un point fort intéressant et important à élucider. Aussi avons-nous cherché, dans une nouvelle expérience, faite non plus avec la toxine diphtérique, mais avec des cultures jeunes du bacille de Loeffler associées au sérum antidiphtérique à voir si, par cette méthode, on pourrait, comme dans l'expérience précédente, permettre à l'organisme de supporter plus rapidement des doses élevées de culture, et par suite d'acquies plus rapidement comme précédemment l'immunité. Mais, afin d'éclaircir la part à attribuer au sérum antidiphtérique injecté avec la culture dans les résultats obtenus, nous avons donné, parallèlement à un autre chien, des doses de sérum immunisant équivalentes à celles dont on additionnait les cultures inoculées au premier animal, afin de voir comment se comporterait comparativement le sérum de ces deux animaux au point de vue de l'acquisition possible d'un certain pouvoir immunisant.

Si l'animal qui a supporté, grâce au sérum, des doses plus élevées de culture, a un sérum plus actif que celui qui n'a reçu que de l'antitoxine, s'il possède un pouvoir immunisant plus élevé, il sera évident par là même que l'antitoxine n'aura joué qu'un rôle accessoire permettant simplement de donner des doses élevées de cultures virulentes sans danger, celles ci seulement, ou du moins pour la majeure partie, intervenant dans les modifications des qualités des humeurs de l'animal ainsi immunisé.

Mais si, au contraire, l'animal, qui n'a reçu que de l'antitoxine, possédait un sérum aussi immunisant que le premier, cela semblerait bien prouver inversement que ce degré d'immunisation que l'on a observé chez tous deux n'est que le fait de l'imprégnation de leur organisme par le sérum antidiphthérique. L'expérience suivante va nous renseigner à ce sujet :

Deux chiens, l'un de 10 k. 500, l'autre de 9 kilos, ont reçu, à plusieurs reprises : le premier, des cultures virulentes, jeunes, de bacille de Loeffler, additionnées de quantités variables de sérum antidiphthérique ; le deuxième n'a reçu que du sérum antidiphthérique à des doses proportionnelles à celles données au premier animal. Ces inoculations ont été répétées un certain nombre de fois, de façon que tous deux aient été imprégnés de la même quantité proportionnelle de sérum, le premier seul, bien entendu, recevant en plus de la culture virulente. Au bout d'un certain temps, on devait faire une saignée à ces deux chiens et éprouver comparativement la valeur préventive de leur sérum.

Les résultats nous renseigneraient sur le rôle respectif des cultures et du sérum antidiphthérique dans l'immunisation de ces animaux. Nous rapportons cette expérience avec détails : observations des chiens et essai des sérums.

## EXPÉRIENCE II (12 mai).

12 mai. — *a/ Chien marron*, 10 kg. 500. Température, 38°6.

Ce chien reçoit presque simultanément :

1° 5 cc.  $\frac{1}{4}$  soit  $\frac{1}{2}$  cc. par kilog. de sérum antidiphthérique (saignée du 28 octobre 1895) sous la peau de la face interne de la cuisse droite.

2° 2 cc.  $\frac{1}{2}$ , soit  $\frac{1}{4}$  par kilog. d'une culture de bacilles diphthériques M. en bouillon peptoné, âgée de 24 heures et très virulente (tuant le cobaye dans des conditions à  $\frac{1}{10}$  cc. en moins de 36 heures).

b) Un autre chien, qui servira de témoin, reçoit aussi  $\frac{1}{2}$  cc. par kilog. du même sérum sous la peau de la cuisse droite. *Chien blanc* de 9 kilogr.

19 mai. — *Chien marron*, T. 38°,5-38°,8.

On ne trouve pas trace d'inflammation ni d'un côté ni de l'autre, ni rougeur, ni infiltrations, pas plus du côté sérum que du côté culture. Il est gai, mange bien.

*Chien blanc*. Rien du tout.

Température du chien marron :

14 mai, 39°1-38°9 ; 15 mai, 38,9-39,5 ; 16 mai, 38-38,5 ; 17 mai, 38,3-38,6 ; 18 mai, 38-38,2.

18 mai, 1° Chien marron. — Deuxième injection sous la peau de la cuisse droite d'un mélange de 5 cc.  $\frac{1}{4}$  de sérum (28 octobre 1895) + 5 cc. de culture de diphtérie M., âgée de 24 heures en bouillon, soit  $\frac{1}{2}$  cc. de culture et de sérum par kilog.

2° Chien blanc. — Deuxième injection, 4 cc. 1/2 de même sérum que précédemment, mais seul, soit 1/2 par kilog.

19 mai. — Temp. 38°5-39°3.

Chien marron, légère tuméfaction de la cuisse inoculée, qui n'est ni chaude, ni rouge, simple épaissement de la peau, dont l'épaississement double ou triple de celui du côté opposé.

20 mai, température, 38°9-38°8; 21 mai, t. 39,1-38,6; 22 mai, t. 38,3-39; 23 mai, t. 38,6-38,9; 24 mai, t. 38,4-39,1; 25 mai, t. 39,1-39,7; 26 mai, t. 39,2-39,5; 27 mai, t. 38,9-39,1; 28 mai, t. 38,8-38,9; 29 mai, t. 38,7-39; 30 mai, t. 38,8-38,7; 31 mai, t. 38,4-38,6.

Cet animal qui, ces jours derniers, a eu une tuméfaction grosse comme un œuf de poule au point d'inoculation, a repris son état normal. Actuellement, on ne trouve plus à ce niveau qu'un petit nodule induré du volume d'une noisette.

4<sup>er</sup> juin. Temp. 38°4-39°. — Troisième injection sous la peau de la cuisse gauche d'un mélange préalable, *in vitro*, de :

1° 5 cc. 1/4 de culture dipht. M. de 24 h. soit 1/2 cc. par kilog.

2° 2 cc. 1/2 de sérum, soit 1/4 cc. par kilog.

Le petit chien blanc reçoit la même dose de sérum par kilog. soit 2 cc. 1/4.

2 juin, température 38°8-39°1; 3 juin, t. 39,3-39,2; 4 juin, t. 39,2-38,8; 5 juin, t. 38,7-38,9.

L'animal ne présente pas trace de tuméfaction ni de rougeur de la cuisse gauche, au point de la dernière injection.

**Quatrième injection.** — 1° *Chien marron*, cuisse droite, dans le tissu cellulaire sous-cutané, d'un mélange préalable de :

7 cc. 1/4 de cult. dipht. M. de 24 h., soit 3/4 cc. par kilog.

2 cc. 1/2 sérum (28 octobre 1895), soit 1/4 cc. par kilog.

2° *Chien blanc*, reçoit :

2 cc. 1/4 du même sérum, soit 1/4 cc. par kilog.

6 juin, *Chien marron*. — La cuisse inoculée présente une tuméfaction saillante du volume d'un gros œuf de poule, sans œdème ni rougeur autour. L'animal ne boite pas. Température, 39°2-39,6;

7 juin, T. 39,4-39: La tumeur s'est ouverte, laissant écouler une sérosité claire et à peine trouble.

8 juin, température 38°8-39°2; 9 juin, T. 39-39,3; 10 juin, T. 39,4-39,2; 11 juin, T. 39-39,4; 12 juin, T. 38,8-39; 13 juin, T. 38,4-38,9; 14 juin, T. 38-38,8.

**Cinquième injection.** — 1° *Chien marron*; cuisse gauche, dans le tissu cellulaire, mélange préalable de :

10 cc. 1/2 cult. diph. M. de 24 h. soit : 1 cc. par kilog.

2 cc. sérum (28/8 95, soit : 1/4 cc. par kilog.

2° *Chien blanc* : 2 cc. 1/4 du même sérum, soit 1/4 cc. par kilog.

Température du chien marron. — 15 juin, 38°8-39, tuméfaction légère de la cuisse; 16 juin, T. 39-39,2, tuméfaction grosse comme une noix; 17 juin, T. 38,8-39,1; 18 juin, T. 38,9 38,9; 19 juin, T. 39-39, 2; 20 juin, T. 38,8-38,9; 21 juin, T. 38,6-39.

**Sixième injection.** — 1° *Chien marron*, revenu à l'état normal, reçoit dans le tissu cellulaire de la cuisse droite :

10 cc. 1/2 cult. dipht. M. de 24 h. soit 1 cc. par kilog.

1 cc. 05 de sérum — soit 1/10 cc. par kilog.

2° *Chien blanc*, 9/10 cc. sérum, soit 1/10 cc. par kilog.

22 juin, température 38°5-39°.

23 juin. — Le chien a une grosse tuméfaction, du volume d'une mandarine, avec une escharre centrale et fistule laissant écouler de la sérosité légèrement rosée. Toute la cuisse est tuméfiée. T. 38°7. T. 38°9.

Le chien blanc n'a rien.

24 juin, température 38°6-38°8; 25 juin, T. 38,5-38,6; 26 juin, T. 38,5-39; 27 juin, T. 38,6-38,7; 28 juin, T. 38,4-39; 29 juin, T. 38,5-38,8.

La fistule est cicatrisée. La tuméfaction a complètement disparu.

**Septième injection.** — 1° *Chien marron*, température 38°9-38°7.

10 cc. 1/2 cult. dipht. M. de 24 h. *pure* dans le tissu cellulaire de la cuisse gauche, soit 1 cc. par kilog.

2<sup>o</sup> *Chien blanc*, pas d'inoculation. C'est la fin des injections de sérum.

1<sup>er</sup> juillet. Température 38°9-39°3.

Tuméfaction notable, grosse comme une noix, au niveau de l'inoculation.

2 juillet. Température 39°1-39°2. Aujourd'hui la tuméfaction est énorme, rouge, de la grosseur d'une moitié de grosse orange, avec des phlyctènes à la surface, contenant un liquide séreux, citrin.

3 juillet. Température 39°3-39°8; 4 juillet, T. 39-39,9; 5 juillet, T. 39,7-39,8; 6 juillet, T. 39-39,4; 7 juillet, T. 39,1-39; 8 juillet, T. 38,6-38,7; 9 juillet, 38,5-39.

A partir de ce jour, la température oscille autour de 38°.

**Huitième injection**, le 25 juillet.

*Chien marron*. — 21 cc. cult. dipht. M. de 24 h. dans le tissu cell. de la cuisse droite, soit 2 cc. par kilogr.

*Chien blanc*. — Rien.

26 juillet. — T. 39; 39,5.

27 juillet. — 39,3; 39,6.

*Chien marron*. — A l'endroit de la dernière injection, tuméfaction œdémateuse notable, dont le centre s'escharifie et se détache, laissant ouverte une plaie aufractueuse assez profonde.

T. le 28, 39,2; 39,3. — Le 29, 39; 38,7, puis redevient normale. — Le 3 août, la guérison est complète.

17 août. **Neuvième injection**.

*Chien marron*. — 21 cc. cult. dipht. M. de 24 h. dans la cuisse gauche, soit 2 cc. par kilogr.

18 août. T. 39,1; 38,8; 19 août, 38,6; 39; légère tuméfaction comme une noix; 20 août, 38,8; 38.

Au bout de quelques jours, tout rentre dans l'ordre, et le 31 on fait une saignée de 30 cc. dans la veine saphène aux deux chiens pour essayer comparativement la valeur de leur sérum. (Voir plus loin les résultats.)

Le 16 septembre, les inoculations au chien marron sont reprises. Le chien blanc est laissé de côté momentanément.

**Dixième injection.** — 20 cc. de culture dipht. de 24 h. tuant le cobaye de 600 gr. à 1/10 cc. en moins de 36 heures; dans le tissu cell. de la cuisse droite. Le 17, T. 39,2 ; 39,3. Le 18, T. 39 ; 39,5. Grosse tuméfaction rouge violacée comme une orange, bien délimitée, très saillante; elle s'ouvre le lendemain. La T. se maintient élevée pendant quelque temps, puis redescend à 38,5, en même temps que la lésion s'est cicatrisée.

**Onzième injection.** — 22 cc. même culture, de 24 h. Nouvel ascension de la température, avec tuméfaction qui s'ulcère. Le 6 octobre, guérison à peu près complète.

**Douzième injection.** — 35 cc. même culture de 48 h., faite profondément dans les tissus pour éviter une rapide évacuation. Il se produit une tuméfaction assez forte, avec ecchymoses et phlyctènes sous-cutanées, contenant un liquide séro-sanguinolent. Ulcération, puis guérison. Le 14, T. 38,4 ; 38,9.

**Treizième injection.** — 45 cc. même culture de 24 h., faite profondément dans le muscle. La température monte assez haut. Le 18, 39,4. Vaste perte de substance à la cuisse et gonflement notable de l'articulation fémoro-tibiale de ce côté.

On fait une ponction dans cet épanchement, le liquide retiré, filant, visqueux, estensemencé en bouillon et donne une culture pure de streptocoques. L'inoculation dans l'oreille d'un lapin donne une tuméfaction qui dure 4 jours et guérit. Le 27 octobre, l'état du chien est toujours défectueux, l'arthrite encore intense, T. 39,9 ; 40,3.

**Quatorzième injection.** — 25 cc. culture de 24 h. dans la cuisse droite. Le 28, le chien est très malade, tuméfaction considérable de la cuisse droite. Selles sanglantes et muqueuses. T. 39,6 ; 40,5. Le 29, l'animal est mourant. On lui prend 30 cc. de sang. Il meurt à 6 heures du soir. Le même jour on prend aussi du sang au chien blanc.

Nous réunissons dans le tableau suivant les diverses injections faites aux deux chiens :

| CHIEN MARRON<br>10 kil 500.                                                                          | CHIEN BLANC<br>9 kilos.            |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| 1 <sup>re</sup> Inject. 1/4 cc. cult. par kil. : 2 cc. 1/2.<br>» 1/2 cc. sérum » 5 cc 1/4.           | 1/2 cc. sér. par kil : 4 cc. 1/2.  |
| 2 <sup>me</sup> Inject. 1/2 cc. cult. par kil. : 5 cc 1/4.<br>» 1/2 cc. sérum » 5 cc. 1/4            | 1/2 cc. sér par kil. : 4 cc 1/2.   |
| 3 <sup>me</sup> Inject. 1/2 cc. cult. par kil. : 5 cc. 1/4.<br>» 1/4 cc. sérum » 2 cc 1/2.           | 1/4 cc sér. par kil. : 2 cc. 1/4.  |
| 4 <sup>me</sup> Inject. 3/4 cc. cult. par kil : 7 cc. 1/4.<br>» 1/4 cc. sérum » 2 cc. 1/2.           | 1/4 cc. sér. par kil. : 2 cc. 1/4. |
| 5 <sup>me</sup> Inject. 1 cc. cult. par kil. : 10 cc. 1/2.<br>» 1/4 cc sérum » 2 cc. 1/2.            | 1/4 cc. sér. par kil. : 2 cc 1/4.  |
| 6 <sup>me</sup> Inject. 1 cc. cult. par kil. : 10 cc. 1/2.<br>» 1/10 cc. sérum » 1 cc. 05.           | 1/10 cc. sér. par kil. : 9/10 cc.  |
| 7 <sup>me</sup> Inject. 1 cc cult. par kil. : 10 cc. 1/2.<br>» Pas de sérum.                         | Rien.                              |
| 8 <sup>me</sup> Inject. 2 cc. cult. par kil. : 21 cc.<br>» » »                                       | »                                  |
| 9 <sup>me</sup> Inject. 2 cc. cult. par kil. : 21 cc.<br>» <i>Saignée de 30 cc. aux deux chiens.</i> | »                                  |
| 10 <sup>me</sup> Inject. 2 cc cult. par kil. : 21 cc.<br>» » »                                       | »                                  |
| 11 <sup>me</sup> Inject. 2 cc. cult. par kil. : 21 cc.<br>» » »                                      | »                                  |
| 12 <sup>me</sup> Inject. 3 cc. cult. par kil. : 35 cc.<br>» » »                                      | »                                  |
| 13 <sup>me</sup> Inject. 3 cc. 1/2 cult. par kil : 45 cc.<br>» » »                                   | »                                  |
| 14 <sup>me</sup> Inject. 25 cc. culture.<br>Mort : on prend du sang du cœur.                         | »<br><i>Saignée.</i>               |

De l'ensemble de cette expérience découlent un certain nombre de propositions. Une première chose nous frappe : lorsqu'après la sixième injection d'un mélange de culture et de sérum, nous avons voulu, dans une septième injection, donner au chien marron une dose de culture virulente égale à celle qu'il avait déjà reçue deux fois, additionnée de sérum, nous avons vu se produire des accidents extrêmement sérieux ; élévation considérable de la température, accompagnée d'une tuméfaction énorme, rouge, avec phlyctènes au point d'inoculation. L'existence de ces doubles phénomènes montre bien à notre avis que l'animal en question ne possédait pas, en tous cas, un degré bien élevé d'immunité.

Il eût été intéressant de pratiquer une injection virulente semblable sur notre second chien, qui avait reçu la même dose de sérum par kilogramme. C'eût été là un moyen de nous renseigner d'une façon précise sur le rôle du sérum dans la création de l'immunité observée. Mais le but de notre travail était plutôt de rechercher si l'on obtenait, par ce moyen, chez les animaux en expérience, un sérum doué d'une activité préventive ou antitoxique notable. Aussi est-ce à l'essai de ce sérum chez le cobaye que nous avons eu recours pour déterminer le degré d'immunité de nos animaux.

Pour cela nous avons fait comparativement aux deux chiens une saignée de quelques centimètres cubes, et le sérum obtenu a été injecté préventivement à des cobayes.

Faisons remarquer encore un fait, avant d'arriver à

l'exposé de nos résultats. Le chien qui avait reçu le mélange de culture et de sérum, eut encore trois inoculations de culture virulente avant que l'on pratiquât la saignée.

Ainsi, avant celle-ci, depuis plus de deux mois, nos deux chiens n'avaient plus reçu de sérum. Au contraire, le premier a continué à recevoir les injections de culture virulente qui, en réalité, auraient dû plutôt augmenter son état d'immunité. Et cependant nous verrons par les résultats obtenus que la différence d'activité du sérum des deux chiens était à peu près nulle. Bien plus, à partir de la première saignée, faite le 31 août, jusqu'au 29 septembre, le premier de nos chiens a continué à recevoir, à intervalles plus ou moins éloignés, cinq nouvelles injections de culture virulente, dans l'espace d'environ deux mois. Or, que s'est-il produit? Toutes ces injections, loin de conférer à cet animal une immunité notable, ont fini, au bout de ce temps, par déterminer des accidents mortels. Nous pouvons donc affirmer, dès lors, que son immunité était bien peu marquée, sinon à peu près nulle, puisque nous le voyons succomber à la suite des inoculations successives. Peu avant la mort, on recueille de nouveau une certaine quantité de son sang, afin d'en doser la valeur préventive. Une nouvelle saignée est faite également au chien qui n'avait reçu que du sérum, et qui, par conséquent, depuis plus de quatre mois, n'avait plus subi aucun traitement, pour examiner comparativement la puissance de son sérum.

Il y a donc eu deux récoltes de sérum. Pour rechercher le pouvoir immunisant de ces sérums, on a fait, avec la première récolte, un premier essai, et avec la deuxième deux essais, en employant dans un cas des doses très petites de sérum, dans l'autre des doses plus fortes.

**Premier essai.**

8 cobayes en 2 lots : A. Sérum chien ayant reçu des cultures,

— B. Sérum chien ayant reçu du sérum.

Le 3 septembre, tous les cobayes, sauf les témoins, reçoivent des doses de sérum proportionnées à leur poids.

Le lendemain, tous reçoivent sous la peau de la cuisse 1/10 cc. de culture de bacille diphtérique, âgée de 48 h.

*Résultats : SÉRUM CHIEN, CULTURE A.*

Témoin, mort en 25 heures.

Cobaye ayant reçu 1/60.000 de son poids, mort en 55 h. 55.

— 1/40.000 — 50 h. 30.

— 1/20.000 — 9 jours.

SÉRUM CHIEN, SÉRUM B.

Témoin, mort en 29 heures.

1/60.000 — 43 heures.

1/40.000 — 30 heures 30.

1/20.000 — 8 jours.

Cette première tentative nous montre qu'il n'y a pas de différence appréciable dans la valeur du sérum des deux chiens. Peut-être celui du *chien ayant reçu des cultures* est-il légèrement plus actif, puisque les cobayes qui ont reçu 1/40,000<sup>e</sup> et 1/60,000<sup>e</sup> de leur poids de sérum ne sont morts qu'en 50 heures et demie et 55 heures, alors que ceux qui ont reçu la

même dose proportionnelle de sérum du deuxième chien sont morts en 30 heures et demie et 43 heures. Mais la différence est fort légère, comme on le voit; et en tous cas, les cobayes qui ont reçu  $1/20,000^{\circ}$  de leur poids des deux sérums ont survécu à peu près le même temps.

Il semble donc bien que la valeur immunisante peu accusée du sérum, constatée dans les deux cas, soit plutôt le fait d'une *immunité passive*, transmise à ces deux chiens par le sérum antidiphthérique qu'ils ont reçu. Le premier ne semble pas avoir tiré grand profit de l'association de culture virulente à ce sérum.

La continuation des injections virulentes chez le premier chien, après la suppression du sérum, a-t-elle donné un meilleur résultat ? C'est ce que vont nous montrer les essais faits comparativement avec le sérum de la deuxième saignée.

#### Deuxième essai.

Dix cobayes en lots : A. Sérum chien ayant reçu des cultures.

B. Sérum chien ayant reçu du sérum.

Le 30 octobre tous les cobayes, sauf les témoins, reçoivent des doses de sérum proportionnées à leur poids.

Le lendemain, tous reçoivent sous la peau de la cuisse  $1/20$  cc. de culture, âgée de 24 heures.

#### Résultats : SÉRUM CHIEN AYANT REÇU DES CULTURES A.

$1/20.000$  mort en plus de 24 heures et moins de 36 heures.

|            |   |   |
|------------|---|---|
| $1/40.000$ | — | — |
|------------|---|---|

|            |   |   |
|------------|---|---|
| $1/60.000$ | — | — |
|------------|---|---|

|            |   |   |
|------------|---|---|
| $1/80.000$ | — | — |
|------------|---|---|

|        |   |   |
|--------|---|---|
| Témoin | — | — |
|--------|---|---|

SÉRUM CHIEN AYANT REÇU DU SÉRUM B.

1/20.000 mort en 45 h. 30.  
1/40.000 mort en moins de 36 heures.  
1/60.000 —  
1/80.000 mort en 22 h. 30.  
Témoin mort en moins de 36 heures.

Troisième essai.

Huit cobayes en 2 lots : A. Sérum chien ayant reçu des cultures.

B. Sérum chien ayant reçu du sérum.

Le 3 novembre, tous les cobayes, sauf les témoins, reçoivent des doses de sérum proportionnées à leur poids.

Le lendemain, tous reçoivent sous la peau de la cuisse 1/20 cc. de culture âgée de 24 heures.

Résultats : SÉRUM CHIEN AYANT REÇU DES CULTURES A.

1/10.000 mort en 20 jours.  
1/1000 mort en 50 jours.  
1/100 mort en 17 h. 30.  
Témoin mort en moins de 36 heures.

SÉRUM CHIEN. — SÉRUM B.

1/10.000 mort en moins de 36 heures.  
1/1000 mort en 112 heures ou 4 jours et 16 heures.  
1/100 mort en 23 heures.  
Témoin mort en moins de 36 heures.

Nous voyons que notre premier chien semble avoir retiré quelque profit de la continuation des injections virulentes ; car, alors que la valeur préventive du sérum de l'animal, qui n'avait plus reçu d'antitoxine depuis quatre mois environ, s'est notablement atténuée pour devenir presque nulle, celle du sérum de notre premier chien s'est atténuée un peu, puisqu'il

n'est plus efficace, à 1/20,000<sup>e</sup>, dose à laquelle il avait protégé notablement les cobayes lors de la première saignée ; mais elle s'est atténuée beaucoup moins que celle du sérum du deuxième chien, puisque ce sérum est encore efficace à 1/10,000<sup>e</sup> et à 1/1000<sup>e</sup>, alors que celui de l'autre chien ne l'est plus du tout au 1/10,000<sup>e</sup>, et ne confère plus au 1/1000<sup>e</sup> qu'une immunité peu marquée. (Mort du cobaye en quatre jours et 16 heures, au lieu de cinquante jours.)

Un fait semble paradoxal. Les deux cobayes qui ont reçu le 1/100<sup>e</sup> de leur poids de sérum, dans le troisième essai, sont morts tous deux très rapidement, plus rapidement même que les cobayes témoins (17 heures et demie et 23 heures, au lieu de 24 à 36 heures). Nous croyons qu'il s'agit d'une action toxique propre au sérum du chien et dont l'appréciation ne doit pas entrer en ligne de compte dans nos résultats.

En somme, il semble bien résulter de tout cela que notre premier chien n'a retiré aucun bénéfice au point de vue de son immunité propre et de la valeur préventive de son sérum, de l'association du sérum antidiphtérique aux cultures virulentes qui lui ont été inoculées.

Dans les deux expériences que nous venons de rapporter, nous avons opéré une fois en ajoutant le sérum à la toxine, sans avoir comparativement d'animal n'ayant reçu que du sérum. Dans la deuxième expérience, nous avons bien eu un chien auquel fut admi-

nistrée de l'antitoxine pure, comparativement avec un autre qui avait reçu antitoxine et culture virulente ; mais les résultats obtenus dans ces deux cas où la marche de l'expérience n'est pas absolument identique ne sont pas exactement comparables. Afin de rendre les phénomènes plus frappants, nous avons cherché à grouper dans une seule expérience ce qui avait fait l'objet des deux précédentes.

A cet effet, nous avons pris trois chiens : à l'un, nous avons inoculé un mélange de sérum antidiphthérique et de culture virulente ; à un deuxième, nous avons injecté la même quantité par kilogramme de sérum antidiphthérique, mélangé à de la toxine. Enfin, un troisième n'a reçu que la même dose par kilo d'antitoxine que les deux précédents. Nous pouvions donc, dans ces conditions, suivre d'une façon exactement parallèle les modifications survenues chez nos animaux et les variations du pouvoir immunisant ou antitoxique de leur sérum.

Voici les détails de cette expérience :

#### EXPÉRIENCE III (18 novembre 1898).

On prend 3 chiens :

1. Ch. noir, 9 k. 500. T. 38,4.
2. Ch. jaune, 11 k. 500. T. 38,7.
3. Petit ch., 5 k. 400. T. 39,1.

**Première injection** (le 18 novembre). *Chien noir*. — Reçoit un mélange de sérum immunisant à 1/60.000 et de culture diphthérique, âgée de 24 h. tuant le cobaye de 500 gr. en moins de 36 h.

dans les proportions suivantes : 1-cc. sérum et 1/4 culture par kg. d'animal, soit : 9 cc. 1/2 sérum et 2 cc. 377 culture.

L'inoculation a été faite dans la cuisse. Le lendemain, celle-ci est un peu tuméfiée, rouge et douloureuse. L'animal est triste. T. 39,3-40. Le 21. Même état général et local, pas de phlyctène. T. 38,5-38. Le 22. Le chien est revenu très gai, tuméfaction presque disparue. T. 37,7-37,8.

*Chien jaune.* — Reçoit un mélange de sérum et toxine, à raison de : par kilogr. 1 cc. sérum, 1/2 cc. toxine tuant le cobaye à 1/2 cc. en moins de 36 h., soit : 11 cc. 1/2 sérum et 5 cc. 6 toxine.

Le lendemain, rien d'apparent localement. T. 38,1-38,6.

Le 20, même état, l'animal est très gai. T. 38,1-38,5.

Le 21, 38,3-38,4. Le 22, 37,9-37,9.

*Petit chien.* — Reçoit 1 cc. sérum par kilogr., soit : 5 cc. 4 sérum.

Le lendemain, rien localement. T. 38-38,6. L'état se maintien satisfaisant, la température normale.

**Deuxième injection** (le 22 novembre). *Chien noir.* — Reçoit un mélange de 1 cc. sérum et 1/2 cc. culture par kilogr., soit 9 cc. 500 sérum et 4 cc. 750 culture sous la cuisse gauche. Le 23, l'animal est un peu abattu, très légère tuméfaction de la cuisse gauche. T. 39,1-38,3. Le 24, amélioration rapide et presque complète. T. 38-38,1. Le 25, T. 37,8-37,7. Le 26, 37,5-37,8.

*Chien jaune.* — Reçoit un mélange de 1 cc. sérum et 1 cc. toxine par kilogr., soit : 11 cc. 1/2 sérum et 11 cc. toxine.

Le 23, l'animal est très gai, très légère tuméfaction de la cuisse gauche. T. 38-38,2. Le 24, 37,5-38,2. Le 25, 37,7-37,5. Le 26, 37,6-37,8.

*Petit chien.* — Reçoit 1 cc. par kilogr. de sérum, soit 5 cc. 400. Les jours qui suivent, il n'y a pas de modification appréciable de l'état général du chien, ni de l'état local au point d'inoculation. La température reste à peu près normale.

**Troisième injection** (le 26 novembre). *Chien noir.* — Mélange d'un 1/2 cc. de sérum et 1/2 de culture par kilogr., soit 4 cc. 75 sérum et 4 cc. 75 culture.

Le lendemain, 27, T. 39,7-39,2. Le 28, animal très abattu, la cuisse droite est extrêmement tuméfiée. T. 38,5-38,6. Le 28, même état, gros ganglion de l'aîne. T. 37,9-39. Le 30, la tuméfaction présente de la fluctuation nette : on l'ouvre au bistouri. Il s'écoule environ 150 cc. d'un liquide hématique, peu purulent. T. 38.

*Chien jaune.* — Mélange de 1/2 cc. sérum et 1 cc. toxine par kilogr., soit 5 cc. 75 sérum et 11 cc. 500 toxine.

Le 27, T. 37,8. Le 28, légèrement triste, cuisse un peu tuméfiée. T. 37,6-38,3. Le 29, T. 37,8-37,6. Le 30, T. 37,7. Bon état général et local.

*Petit chien.* — 1/2 cc. sérum par kilogr., soit 2 cc. 70. Aucun trouble. T. 38,3-38,4. Se maintient normale.

**Quatrième injection** (30 novembre). *Chien noir.* — A cause de son état encore grave, il ne reçoit rien.

*Chien jaune.* — Reçoit un mélange de 1 cc. sérum et 1 1/2 toxine par kil., soit 5 cc. 75 sérum et 17 cc. 25 toxine

Le 1<sup>er</sup> décembre, pas d'abattement, comme après les inoculations précédentes. Pas de tuméfaction locale. T. 38<sup>o</sup>1-37,5. Le 2, état très satisfaisant. T. 37,7-38. Le 3, T. 37,6-37,7.

*Petit chien.* — Reçoit 1/2 cc. sérum, soit 2 cc. 70. Cet animal ne présente aucune réaction apparente après l'inoculation. La température s'élève très faiblement pendant une journée.

**Cinquième injection** (3 décembre). *Chien noir.* — Il n'est pas encore suffisamment remis et ne reçoit rien.

*Chien jaune.* — Mélange 1/2 cc. sérum et 2 cc. toxine par k., soit 5 cc. 75 sérum et 23 cc. toxine. Le lendemain 4, il y a une légère tuméfaction de la cuisse au point d'inoculation. T. 37,9-38,1. Le 5, 33-37,7. Le 6, 37,8-38,2.

*Petit chien.* — Reçoit 1/2 cc. sérum par k., soit : 2 cc. 70. Rien à signaler dans les quelques jours qui suivent.

**Sixième injection** (6 décembre). *Chien noir.* — On recommence par une dose assez faible de culture afin d'éviter une réaction

trop intense. Mélange de 1/2 cc. sérum et 1/2 culture par k., soit 4 cc. 75 sérum et 4 cc. 75 culture.

Le lendemain, la cuisse est un peu tuméfiée, l'animal pas très abattu. T. 39<sup>o</sup>4-39,3. Le 8, la tuméfaction de la cuisse persiste. T. 38,2-38,8. Le 9, la cuisse présente un abcès qui s'est ouvert spontanément. T. 38-38,5; le 10, 38,4-38,3.

*Chien jaune.* — Mélange de 1/4 cc. sérum et 2 cc. par kilogr., soit 3 cc. sérum et 23 cc. toxine.

Le 7, il y a une très légère tuméfaction de la cuisse, mais un très bon état général. T. 37,7-38,4. Le 8, encore un peu de tuméfaction de la cuisse. 37,6-37,7. Le 9, 37,5-37,5. Le 10, 37,4-38,1.

*Petit chien.* — Reçoit 1/4 cc. sérum par kilogr., soit 1 cc. 5. Cet animal résiste aussi bien qu'à toutes les inoculations précédentes.

**Septième injection** (10 décembre). *Chien noir.* — A cause de son abcès, pas d'inoculation.

*Chien jaune.* — Mélange de 1/8 cc. sérum et 2 cc. toxine par kilogr. soit 1 cc. 300 sérum et 23 cc. toxine.

Le 11, 38,2-38,4. Le 12, 37,9-38. Puis, tout rentre dans l'ordre.

*Petit chien.* — 1/8 cc. sérum par kilogr., soit : 0 cc. 674 sérum. Rien à signaler.

**Huitième injection** (15 décembre). *Chien noir.* — Reçoit 1/2 cc. sérum et 1 cc. culture par kilogr., soit : 4 cc. 75 sérum et 9 cc. 500 culture.

Le lendemain, grosse tuméfaction de la cuisse. Le chien est abattu, reste couché. T. 38,4-39. Le 17, gros abcès de la cuisse qui s'est ouvert spontanément. T. 39,4-37,6. Le 18, 37,7-38. Le 19, 37,7-37,8. Le 20, 37,7-38.

*Chien jaune.* — Pas d'inoculation.

*Petit chien.* — Pas d'inoculation.

Le 20 décembre, on fait une *saignée* à chacun des trois chiens pour apprécier la valeur de leur sérum (Voir plus loin les résultats).

**Neuvième inoculation** (22 décembre). *Chien noir* — Reçoit un mélange de 1/4 cc. et 1 cc. culture, soit : 2 cc. 37 sérum, 9 cc. 500 culture.

Le lendemain, 23, tuméfaction de la cuisse. T. 39,4-39,5. Le 24, un abcès s'est formé et s'est ouvert spontanément. T. 38,8-38,4. Le 25, 38-38,7. Le 26, l'animal est assez abattu ; il porte à la face interne de la cuisse droite une escharre comme une pièce de 1 franc.

Le 27, T. 38,1-58,4 le 28. Localement on trouve encore deux plaies de la dimension de pièces de 2 francs, à bords roses, détergés, en voie de guérison. On constate encore au niveau de l'avant-dernière inoculation une petite ulcération. Bon appétit. T. 38,4-38-6. L'état général et local va en s'améliorant, la température redescend à 38° environ.

*Chien jaune.* — Ne reçoit pas de sérum, mais seulement 2 cc. toxine par kilogramme soit 23 cc. toxine.

Le lendemain, il y a de la tuméfaction de la cuisse avec une température de 38,2-38,6. Le 24, la tuméfaction est assez considérable. T. 38-38,1 ; le 25, 37,8-38,8. Le 26, le chien est très abattu. L'œdème de la cuisse persiste et s'étend du côté de la paroi abdominale. T. 38,6-39 ; le 27, 38,9-39,2 au niveau de la dernière injection, la cuisse est extrêmement tuméfiée, l'œdème s'étend jusqu'à l'extrémité de la patte et à la racine de la cuisse. Une vaste plaque gris-noirâtre, sphacélée, à bords décollés, tendant à s'éliminer, occupe la face interne de la cuisse sur une surface grande comme la paume de la main. Gros cordon de lymphangite à la racine de la cuisse. L'animal est très abattu, ne mange pas et lèche constamment sa plaie. Le 29, T. 39,4-38,9 ; le 30, l'escharre s'est détachée, laissant une vaste plaie sanguinolente. T. 38,9-39,2 ; le 31, la plaie occupe presque toute la face interne de la cuisse. T. 39-39,4.

Pendant plusieurs jours la température se maintient assez élevée. Puis, en même temps qu'elle redescend, le fond de la plaie bourgeonne, la cicatrisation se fait, et l'appétit revient au chien.

*Petit chien* — On ne fait pas d'inoculation.

A cette époque, l'expérience est-arrétée. Les trois chiens ont reçu des quantités totales de sérum à peu près équivalentes, proportionnellement à leur poids.

Les injections reçues par les trois chiens sont résumées dans le tableau suivant.

| CHIEN NOIR<br>9 k. 5                                         | CHIEN JAUNE<br>11 k. 5                                         | PETIT CHIEN<br>5 k. 4                |
|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| 1 cc. sér. par k. : 9 cc. 1/2<br>1/4 cc. cult. » : 2 cc. 37  | 1 cc. sér. par k. : 11 cc. 1/2<br>1/2 cc. tox. » : 5 cc. 6     | 1 cc. sér. par k. : 5 cc. 4<br>»     |
| 1 cc. sér. par k. : 9 cc. 5<br>1/2 cc. cult. » : 4 cc. 75    | 1 cc. sér. par k. : 11 cc. 1/2<br>1 cc. tox. » : 11 cc. 1/2    | 1 cc. sér. par k. : 5 cc. 4<br>»     |
| 1/2 cc. sér. par k. : 4 cc. 75<br>1/2 cc. cult. » : 4 cc. 75 | 1/2 cc. sér. par k. : 5 cc. 75<br>1 cc. 1/2 tox. » : 17 cc. 25 | 1/2 cc. sér. par k. : 2 cc. 70<br>»  |
| Rien.                                                        | 1/2 cc. sér. par k. : 5 cc. 75<br>1 cc. 1/2 tox. » : 17 cc. 25 | 1/2 cc. sér. par k. : 2 cc. 7<br>»   |
| Rien.                                                        | 1/2 cc. sér. par k. : 5 cc. 75<br>2 cc. tox. » : 23 cc.        | 1/2 cc. sér. par k. : 2 cc. 7<br>»   |
| 1/2 cc. sér. par k. : 4 cc. 75<br>1/2 cc. cult. » : 4 cc. 75 | 1/4 cc. sér. par k. : 3 cc.<br>2 cc. tox. » : 23 cc.           | 1/4 cc. sér. par k. : 1 cc. 5<br>»   |
| Rien                                                         | 1/8 cc. sér. par k. : 1 cc. 3<br>2 cc. tox. » : 23 cc.         | 1/8 cc. sér. par k. : 0 cc. 674<br>» |
| 1/2 cc. sér. par k. : 4 cc. 75<br>1 cc. cult. » : 9 cc. 5    | Rien.                                                          | Rien.                                |
| <i>Saignée aux trois chiens.</i>                             |                                                                |                                      |
| 1/4 cc. sér. par k. : 2 cc. 57<br>1 cc. cult. » : 9 cc. 5    | »<br>2 cc. tox. par k. : 23 cc.                                | Rien.                                |
| TOTAL { 40 cc. 37 de sérum.<br>35 cc. 62 de culture          | 44 cc. 55 de sérum.<br>113 cc. 60 de toxine.                   | 18 cc. 374 de sérum.                 |

Plusieurs faits sont intéressants à relever dans l'observation ci-dessus. En l'espace de trente-deux jours, nos animaux ont reçu tous trois une quantité sensiblement égale par kilogramme d'antitoxine. Le premier chien, 3 cc.  $\frac{1}{2}$ , plus 3 cc.  $\frac{3}{4}$  de culture virulente par kilo. Le deuxième, 3 cc.  $\frac{7}{8}$ , plus 10 cc.  $\frac{1}{2}$  de toxine par kilo. Le troisième, 3 cc.  $\frac{7}{8}$  seulement par kilo d'antitoxine.

Pendant toute la durée des injections, les chiens à qui l'on administrait de la culture et de la toxine ont réagi d'une façon notable, bien qu'ils aient supporté des quantités de culture ou de toxine qui les auraient infailliblement tués sans l'intervention du sérum. Mais en ont-ils retiré un réel avantage au point de vue des qualités nouvelles qu'ils ont pu acquérir? Il ne semble pas en être ainsi.

En effet, même lors de la dernière injection de culture virulente et d'antitoxine qu'a reçue le dernier chien, les accidents locaux ont été à peu près aussi accusés qu'au moment des premières inoculations. Il ne paraissait donc pas avoir acquis une notable immunité, en dehors de celle conférée par l'adjonction d'antitoxine.

Pour notre deuxième chien, les faits sont encore plus caractéristiques. Alors que l'animal a reçu sept injections de toxine et d'antitoxine dans l'espace d'un mois environ, et qu'on pouvait supposer que grâce à ces doubles injections il avait acquis une notable immunité, nous voyons la huitième injection, faite avec la toxine, pure produire chez lui des accidents extrême-

ment graves, locaux et généraux, indiquant bien qu'en réalité son immunité était bien peu accusée.

Il eût été intéressant encore ici, comme nous l'avons dit à propos d'une expérience précédente, de faire la même injection de toxine pure au chien à qui l'on n'avait donné jusqu'alors que de l'antitoxine. Mais encore ici, ce que nous voulions voir surtout, c'était plutôt les propriétés acquises par le sérum de nos animaux. Aussi avons-nous pratiqué chez tous trois une saignée, alors qu'ils eurent reçu à peu près la même quantité d'antitoxine par kilogr., afin d'examiner comparativement la valeur préventive de leur sérum à ce moment.

Les résultats sont consignés dans l'expérience suivante :

Le 23 décembre, on fait un essai des sérums de la saignée du 20. A cet effet, 11 cobayes sont répartis en quatre lots, le premier lot comprenant deux cobayes témoins. Les cobayes des trois autres lots reçoivent, le 23, des quantités de sérum proportionnées à leur poids. Environ vingt-quatre heures après cette inoculation préventive, tous les animaux, y compris les témoins, reçoivent dans le tissu cellulaire sous-cutané, 1/10 cc. de culture de bacille Lœffler en bouillon, âgée de 24 heures. Voici quels sont les résultats :

|                     |   |                                                       |
|---------------------|---|-------------------------------------------------------|
| A. Cobayes témoins. | { | 1 <sup>o</sup> mort en 45 heures.                     |
|                     | { | 2 <sup>o</sup> — 47 heures.                           |
| B. Cob. immunisés   | { | 1 <sup>o</sup> 1/1.000, mort en — de 72 h. et — de    |
| avec sérum chien,   | { | 84 heures.                                            |
| culture.            | { | 2 <sup>o</sup> 1/10.000, mort en — de 33 h.           |
|                     | { | 3 <sup>o</sup> 1/20.000, mort en — de 36 h.           |
| C. Cob. immunisés   | { | 1 <sup>o</sup> 1/1.000, mort en 120 h. et — de 132 h. |
| avec sérum chien,   | { | 2 <sup>o</sup> 1/10.000, mort en 132 h.               |
| toxine.             | { | 3 <sup>o</sup> 1/20.000, mort en — de 72 h. et —      |
|                     | { | de 84 h.                                              |

|                                                  |   |                                         |
|--------------------------------------------------|---|-----------------------------------------|
| D. Cob. immunisés<br>avec sérum chien,<br>sérum. | { | 1° 1/1.000, mort en 143 h. 1/2.         |
|                                                  |   | 2° 1/10.000, mort en 144 h.             |
|                                                  |   | 3° 1/20.000, mort en — de 48 h. et en — |
|                                                  |   | de 60 h.                                |

Les résultats de cette expérience sont des plus suggestifs en ce qui concerne précisément ce que nous cherchons à savoir.

Alors que les cobayes témoins meurent en quarante-cinq et quarante-sept heures, nous voyons la mort survenir plus rapidement chez ceux inoculés avec 1/20.000 et 1/10.000 du sérum du chien ayant reçu de l'antitoxine et de la culture. Cependant, le cobaye à qui l'on a donné 1/1.000 de ce sérum a survécu un peu, indiquant par là que ce sérum était très légèrement préventif. Mais l'examen des autres lots de cobayes est bien plus intéressant.

Nous voyons, en effet, tous les cobayes traités avec le sérum du chien qui avait reçu le mélange d'antitoxine et de toxine, survivre d'une façon notable par rapport aux témoins, traduisant ainsi la valeur préventive acquise d'une façon indéniable par le sérum de ce chien. Mais, fait remarquable et bien digne d'attirer notre attention, le sérum du chien à qui l'on n'a donné que de l'antitoxine a acquis un pouvoir préventif au moins égal, et même légèrement supérieur.

Ainsi, il résulte d'une façon péremptoire de cette expérience, que l'on n'a eu aucun avantage à employer les mélanges d'antitoxine et de culture ou de toxine. En effet, cette méthode ne semble pas permettre de

faire supporter plus rapidement aux animaux des quantités plus élevées de culture plus virulente ou de toxine. Car, aussitôt qu'on supprime l'antitoxine dans le mélange, les accidents les plus graves surviennent. On n'a donc produit aucune immunité notable par ce moyen.

De plus, on ne confère ainsi au sérum des animaux que le pouvoir préventif qui résulte de l'administration de la seule antitoxine. Bien plus, il semble résulter de ce dernier fait que l'adjonction de culture virulente ou de toxine à l'antitoxine, atténue l'action de celle-ci chez les animaux en expérience.

Ne voulant pas borner nos essais à des animaux aussi peu favorables, en somme, à la production du sérum antidiphtérique, nous nous sommes adressés à un représentant de la famille des équidés.

L'immunisation a été tentée chez une *ânesse* par l'emploi d'injections sous-cutanées d'un mélange de toxine diphtérique et d'antitoxine, en diminuant progressivement les proportions de celle-ci. Une saignée devait nous indiquer, au bout d'un certain temps, qu'elle était la valeur préventive acquise dans ce cas par le sérum de notre ânesse.

L'expérience a duré près de trois mois : commencée le 3 décembre, la saignée fut faite le 25 février. L'ânesse avait reçu 12 *injections*, la dernière ayant été faite le 17 février.

EXPÉRIENCE IV (3-décembre 1898).

**Anesse grise.**

La température, pendant les cinq premiers jours qui précèdent la première inoculation, varie de 36,6 à 37,5. Poids, 144 kilog.

**Première injection** (le 3 décembre). — Dans le tissu cellulaire sous-cutané, derrière l'épaule gauche, cet animal reçoit un mélange de 5 cc. toxine et 10 cc. sérum.

Le 4, T. 37-37,8. Le 5, 37,2-37,7. Il n'y a pas de réaction ni locale, ni générale. L'appétit est conservé. Le 6, 37-37,5.

**Deuxième injection** (le 6 décembre). — Dans le tissu cellulaire, du côté opposé, mélange de 10 cc. toxine et 10 cc. sérum.

Le 7, T. 37,1-37,4. Aucune réaction apparente. Le 8, 37,3-37,8. Le 9, 37-37,8. Induration assez marquée au niveau de la première inoculation à gauche. Le 10, 37-37,4.

**Troisième injection** (le 10 décembre). — 10 cc. de toxine et de 10 cc. de sérum.

Le 11, T. 37,2-37,3. Pas de réaction apparente. Le 12, 37,2-37,7. Le 13, 37,4-37,4. Le 14, 37-37,4. Induration au point d'inoculation. Le 15, 36,8-37,1.

**Quatrième injection** (le 15 décembre). — Dans le côté droit, 20 cc. de toxine et 10 cc. de sérum.

Le 16, T. 36,5-37,4. Pas de réaction apparente. Le 17, 36,7. Le 18, 36,5-37. Le 19 il se forme une nouvelle induration au point inoculé. Le 20, 37-37,6.

**Cinquième injection** (le 22 décembre). — Dans le côté gauche, 30 cc. de toxine et 10 cc. de sérum.

Le 23, T. 36,9-37,7. Pas de modification dans l'état général. Le 24, 37,2-37,6. Même état. L'appétit est conservé. Le 25, 37-37,5. Le 26, 36,7-37,2.

**Sixième injection** (le 26 décembre). — Dans le côté droit, 30 cc. toxine et 5 cc. sérum. Pas d'élévation thermique appréciable dans les jours qui suivent.

**Septième injection** (le 6 janvier). — Dans le côté gauche, 30 cc. de toxine et 3 cc. de sérum. Rien à signaler.

**Huitième injection** (11 janvier). — Dans le côté droit, 30 cc. de toxine et 2 cc. de sérum. Pas d'élévation de la température le 16, apparaît une légère induration au point d'inoculation.

**Neuvième injection** (16 janvier). — Dans le côté gauche : 30 cc. toxine ; 1 cc. sérum ; rien de notable.

**Dixième injection** (21 janvier). — Dans le côté droit : 30 cc. toxine ; 3/4 cc. sérum ; pas de changement.

**Onzième injection** (24 janvier). — Dans le côté gauche : 30 cc. toxine ; 1/2 cc. sérum ; pas de changement.

**Douzième injection** (17 février). — On emploie une nouvelle toxine, plus virulente, tuant le cobaye à 1/10 cc. en 45 h. Aussi la dose injectée est-elle moindre, tandis que celle de sérum est augmentée : 20 cc. toxine ; 2 cc. sérum.

Quelques jours après il s'est formé, au point d'inoculation, une tuméfaction grosse comme une petite orange. La température reste anormale. Le 22, 36,7-37 ; le 23, 36,5-37,2.

Le 25 février ont fait une *saignée* à l'ânessè. Le sérum est très limpide.

Cette ânessè paraît avoir supporté très facilement, sans réaction locale, ni générale notable, des doses même élevées de toxine ; car on a pu lui donner, sans déterminer d'accident, dès la 2<sup>e</sup> injection, 1 cc. de toxine ; 20 cc. à la 3<sup>e</sup> et 30 cc. à la 5<sup>e</sup>.

On a continué jusqu'à la 12<sup>e</sup> injection cette dose fixe de toxine, mais en *diminuant progressivement les doses de sérum*, de 10 cc., au début, à 1/2 cc. lors de la 11<sup>e</sup>. Comme, pour la 12<sup>e</sup> injection, nous avons uti-

lisé une toxine nouvelle, plus active, la dose de toxine a été abaissée (20 cc.) et celle d'antitoxine légèrement relevée (2 cc.). Il n'y a eu qu'une petite tuméfaction locale sans accidents généraux.

Evidemment, dans ce cas particulier nous avons pu faire supporter, impunément et très rapidement, à l'animal en expérience, des doses très élevées de toxine. Mais le pouvoir immunisant acquis dans ces conditions par le sérum de notre ânesse a-t-il été celui que l'on aurait dû trouver chez un animal supportant, sans accident, des doses aussi élevées de toxine ?

L'essai du sérum obtenu par la saignée faite le 23 février, c'est-à-dire au bout de près de trois mois de traitement, est absolument en opposition avec une pareille supposition.

Nous avons essayé, successivement, la valeur de ce sérum au point de vue de son pouvoir antitoxique et aussi de son pouvoir préventif vis-à-vis d'une culture complète. Les résultats que nous rapportons plus haut plaident en faveur d'une certaine activité de ce sérum. Ses effets semblent pourtant assez inconstants. C'est ainsi que, dans le premier essai du pouvoir antitoxique, nous voyons le cobaye, qui a reçu la plus forte dose de sérum, mourir dans le même délai que les témoins, qui n'ont reçu que la toxine, alors que les autres semblent survivre d'autant plus longtemps qu'ils ont reçu une dose plus faible de sérum.

Cependant, nous voyons, en ce qui concerne le pouvoir préventif, vis-à-vis de la culture, les cobayes qui ont reçu le 1/5000 et le 1/30000 de leur poids de

sérum survivre, tandis que celui qui en a reçu le 1/15000 est mort aussi rapidement que le témoin. Les mêmes faits sont notés au cours d'un deuxième essai du pouvoir antitoxique.

### ESSAIS DU SÉRUM DE L'ANESSE

#### Premier essai (1<sup>er</sup> Mars).

Deux cobayes témoins, 3/100 cc. toxine; morts en moins de 48 heures.

Trois cobayes recevant même quantité de toxine et en plus :

A. 1/2.000 de son poids de sérum      mort en 48 heures.

B. 1/10.000                              —                              72 heures.

C. 1/40.000                              —                              6 jours.

Donc, d'autant plus rapidement qu'ils avaient reçu plus de sérum.

#### Deuxième essai (8 Mars).

Deux cobayes témoins, 1/20 cc. culture complète, mort dans les 72 heures; 1/10 cc. culture complète, mort dans les 48 heures.

A. 1/5.000 de son poids de sérum      pas mort.

B. 1/15.000                              —                              mort en moins de 48 h.

C. 1/30.000                              —                              pas mort.

#### Troisième essai (16 Mars).

Un cobaye témoin, 1/40 cc. toxine, Montpellier, mort en plus de 24 heures, en moins de 48 h.

Trois autres cobayes reçoivent des doses variables de mélange de sérum et toxine au 1/50, 1/100 et 1/200.

A. 1/40 cc. mélange au 1/50      mort en moins de 48 heures.

B. 1/40                              —                              1/100      mort en plus de 72 heures.

C. 1/40                              —                              1/200      pas mort.

En somme, le sérum de cette ânesse semble avoir

acquis, à un certain degré, un pouvoir antitoxique et immunisant ; mais ce dernier n'est pas très élevé, ni absolument constant. Cette expérience, pas plus que les précédentes, ne plaide donc en faveur de cette méthode d'immunisation.

## CHAPITRE IV

### Sérum à doses constantes associé à des toxines ou cultures à doses progressives.

Devant l'inefficacité de nos premières tentatives, rapportées dans le Chapitre précédent, nous avons essayé si la seconde méthode, à laquelle nous avons fait allusion à la fin de notre second Chapitre, ne donnerait pas de meilleurs résultats. Cette méthode, nous le rappelons, consiste à maintenir d'une façon constante les animaux, en expérience, sous l'influence de l'antitoxine diphtérique, de façon à éviter toute réaction trop vive ou nuisible de la part des cultures virulentes ou de la toxine que l'on injecte simultanément.

Mais, pour arriver à faire acquérir aux animaux une immunité de plus en plus marquée, pendant qu'on laisse constantes les quantités d'antitoxine que l'on injecte, on élève progressivement les doses de cultures et de toxines.

Dans le but de nous rendre compte de l'efficacité d'une pareille manière de faire, nous avons institué l'expérience suivante :

*Quatre chiens* ont été inoculés de la façon suivante :

Le premier avec 1 cc. d'antitoxine par kilogramme

et des quantités croissantes de *cultures* de diphtérie virulentes, âgées de vingt-quatre heures. L'emploi d'une pareille culture devait nous permettre, comme dans nos précédentes expériences, de voir quelle était l'action du bacille de Lœffler, lui-même, en dehors de toute toxine active qui n'existe pas encore à cet âge dans les cultures.

Un deuxième chien a reçu, de même, 1 cc. de sérum par kilogramme et des doses croissantes de *toxine* active.

Un troisième a reçu, exclusivement, 1 cc *d'antitoxine* par kilogramme lors de chaque injection.

Nous avons donc ainsi toujours nos trois séries parallèles de chiens, recevant exactement la même quantité par kilogramme de sérum antidiphtérique et dont deux recevaient, en outre, des doses progressives de culture ou de toxine.

Dans le but de rendre cette expérience plus complète et plus démonstrative, nous avons pris un quatrième animal, dont nous avons tenté l'immunisation par des injections exclusives de doses très faibles de *toxine* active, d'abord associée à la solution iodo-iodurée, puis ultérieurement à l'état de pureté.

Le quatrième chien devait nous montrer si, dans le même temps, on n'obtient pas, par ce simple procédé classique, et contrairement aux idées de Babès, une immunité aussi active que par le procédé consistant dans l'association de l'antitoxine.

Suivent les détails de cette expérience.

EXPÉRIENCE V (7 septembre 1899).

On prend quatre chiens :

N° 1. Chien tigré, 12 kil. T. 38°2.

N° 2. Chien jaune, 11 kil. T. 37,9.

N° 3. Chien noir, 18 kil. T. 38,1.

N° 4. Chien gris, 15 kil. T. 38.

**Première injection**, le 5 septembre. *Chien tigré*. — Reçoit 1 cc. sérum + 1/10 cc. de culture par kilogr. (culture de diphtérie David, âgée de 24 heures), soit 12 cc. sérum et 1 cc. 2 culture.

Il n'y a pas grande réaction. La température se maintient entre 38,1 et 38,5.

*Chien jaune*. — Reçoit 1 cc. sérum et 1/10 cc. toxine par kilogr. soit 11 cc. sérum et 1 cc. 10 toxine.

Rien à signaler.

*Chien noir*. — Reçoit 1 cc. toxine, additionnée de 1/10 cc. de liqueur de Gram, afin d'atténuer la virulence de la toxine et de prévenir une réaction trop intense. T. le 8, 38,4 ; 38,6. Le 9, 38,2 ; 38,5.

*Chien gris*. — Reçoit 1 cc. de sérum par kilogr., soit 15 cc. de sérum.

Pas plus que les précédents, cet animal ne présente de réaction appréciable.

**Deuxième injection**, le 11 septembre. *Chien tigré*. — On lui injecte un mélange avec 1 cc. de sérum + 2/10 cc. culture par kilogr., soit 12 cc. sérum et 2 cc. 4 culture.

Le 12. T. 38,1 ; 38,6, qui ne varie guère pendant les jours suivants.

*Chien jaune*. — Reçoit 1 cc. sérum + 2/10 cc. toxine par kilogr., soit 11 cc. sérum et 2 cc. 20 culture.

La température se maintient autour de 38.

*Chien noir*. — Reçoit 2/10 cc. additionnés de 1/10 cc. de liqueur de Gram. T. le 12, 38,7 ; 38,9. Le 13, 38,6 ; 38. Le 14, 38 ; 38,3.

*Chien gris.* — Reçoit 1 cc. de sérum par kilogr., soit 15 cc. Rien de particulier à noter.

**Troisième injection**, le 19 septembre. *Chien tigré.* — Il reçoit 1 cc. de sérum et 3/10 cc. culture par kilogr., sous la peau de la cuisse, soit 12 cc. sérum et 3 cc. 6 culture.

Le 21, tuméfaction locale, rouge, douloureuse. T. 38,6 ; 38,8 ; le 22, la tumeur est grosse comme un œuf de poule. T. 39,2 ; 39,4 ; le 23, 38,5 ; 38,9 ; le 24, il s'est fait une petite exulcération superficielle. T. 38,4 ; 38,6 ; le 25, tout est en voie de guérison. T. 38,6 ; 37,5.

*Chien jaune.* — Reçoit 1 cc. sérum plus 4/10 cc. de toxine par kilogr., soit 11 cc. sérum et 4 cc. toxine.

Le lendemain. T. 38,2 ; 39, Pas de réaction locale. Très légère ascension de la température, dissipée au bout de 48 heures.

*Chien noir.* — Reçoit un mélange de 3/10 cc. toxine, plus 1/10 cc. de liqueur de Gram. Pas de réaction.

*Chien gris.* — Reçoit 1 cc. sérum par kilogr., soit 15 cc. Il ne présente, dans les jours qui suivent, aucune réaction, ni locale ni générale.

**Quatrième injection.** — *Chien tigré.* — On lui injecte un mélange de : 1 cc. sérum plus 4/10 cc. culture par kilogr. soit 12 cc. sérum et 4 cc. 8 suture.

Le 27, T. 38,5 ; 39,5. Le 28, 39,4 ; 39,7. Le 30, il s'est développé une forte tuméfaction rouge avec tendance au sphacèle au niveau de la dernière inoculation et aussi de l'avant-dernière. T. 38,8 ; 37,8. Le 4 octobre, sphacèle, avec large perte de substance à l'emporte-pièce aux deux cuisses (face interne). T. 38,6 ; 38,6. Le 13, les ulcérations locales persistent, mais avec un mieux sensible. T. 38 ; 38,1.

*Chien jaune.* — On lui injecte 1 cc. sérum + 5/10 cc. toxine par kilogramme ; soit 11 cc. sérum et 5 cc. 5 toxine.

Le 27, T. 38,3-38,7 ; le 28, 39-39,1.

*Chien noir.* — Reçoit un mélange de 5/10 cc. toxine additionnée de 1/10 cc. de liq. de Gram.

*Chien gris.* — Reçoit 15 cc. sérum, c'est-à-dire 1 cc. par kilog. aucune réaction.

**Cinquième injection** (30 septembre), *Chien tigré.* — La cuisse où a été faite la dernière injection étant encore notablement tuméfiée cet animal ne reçoit rien cette fois-ci.

*Chien jaune.* — Reçoit un mélange de 1 cc. sérum + 6/10 cc. toxine par kilogr., soit 11 cc. sérum 6 cc. 6 toxine.

*Chien noir.* — Mélange de 7/10 cc. toxine + 1/10 cc. de liq. de Gram ; le 1<sup>er</sup> octobre, T. 38,4-38,7 ; le 2, 38,2-38,5.

*Chien gris.* — 1 cc. sérum par kil. soit 15 cc. Le 1<sup>er</sup> octobre, T. 38,6-38,5 ; le 2, 38,4-38,5.

**Sixième injection** (le 5 octobre), *Chien tigré.* — Pas d'inoculation.

*Chien jaune.* — Reçoit 1 cc. sérum + 1 cc. toxine par kilog. soit 11 cc. sérum et 11 cc. toxine.

Le 5, T. 38,5-38,1 ; le 6, 38,2-38,3 ; le 7, 38-38 ; le 9, 38,1-38,4.

*Chien noir.* — Reçoit 1 cc. toxine additionné de 1/10 cc. de liq. de Gram. Pas grande réaction.

*Chien gris.* — Reçoit 1 cc. sérum par kil. soit 15 cc. ne réagit pas non plus d'une façon appréciable.

**Septième injection** (le 13 octobre), *Chien tigré.* — Présente encore des ulcérations à la cuisse ; aussi ne fait-on pas d'injection,

*Chien jaune.* — On lui injecte un mélange de 1 cc. de sérum + 1 cc. 1/2 toxine par kilogr. soit 11 cc. sérum et 16 cc. 1/2 de toxine.

Le 14, T. 33-33,1 ; le 15, 33-38,2 ; le 16, 38,2-38,4.

*Chien noir.* — Reçoit 1 cc. 1/2 de toxine additionné de 1/10 cc. de liqueur de Gram.

Le 14, T. 37,5-37,7 ; le 15, 38,4-38,4 ; le 16, 38,3-38,3.

*Chien gris.* — 1 cc. sérum par kil. soit 15 cc. sérum.

Le 14, T. 37,9-38,2 ; le 15, 38-38,3 ; le 16, 38,1-38,5.

**Huitième injection** (17 octobre), *Chien tigré*. (cinquième injection pour lui). — Cet animal étant presque entièrement rétabli, on lui injecte un mélange faible : 1 cc. sérum pour 3/10 cc. culture par kilogramme, soit 12 cc. sérum et 3 cc. 6 culture.

Le 18, T. 38,5-37,5 ; le 19. 38-38,1. Il se forme une ulcération nouvelle au point d'inoculation. Le 20, T. 37,8-38.

*Chien jaune*. — La dose de toxine est un peu augmentée. 1 cc. sérum pour 2 cc. de toxine par kilogramme, soit 11 cc. sérum et 22 cc. toxine.

L'animal supporte bien l'inoculation. La température ne s'élève pas au-dessus de 38,2.

*Chien noir*. — La quantité de toxine est aussi augmentée, mais en conservant toujours préventivement la liqueur de Gram. Ce chien reçoit 2 cc. de toxine + 1/10 cc. de Gram ; réaction insignifiante.

*Chien gris*. — Reçoit encore la même quantité de sérum, soit : 15 cc.

Le 18, T. 38,3-38,4 ; le 19, 38,1-38,2.

**Neuvième injection** (21 octobre), *Chien tigré*. — Le chien va bien, l'ulcération de la cuisse se cicatrice ; l'autre est en voie d'évolution. Il y a une tuméfaction dure, profonde, diffuse, au niveau de la dernière injection. On ne fait pas d'inoculation.

*Chien jaune*. — La toxine employée est très virulente. Elle tue le cobaye à 1/10 cc. en 36 heures. Aussi la dose injectée est-elle diminuée : 1 cc. sérum + 1 cc. toxine par kilogr., soit 11 cc. sérum et 11 cc. toxine.

Le 22, T. 38,5-38,7, Le 23, 38,4-38,4. Le 24, 38-38-9. Le 25, 38-39,1. La température se maintient assez élevée pendant plusieurs jours, puis redescend à la normale.

*Chien noir*. — On diminue aussi sa dose de toxine. Il reçoit 0 cc. 2 de toxine additionnée de 1/10 cc. de liqueur de Gram.

Aucun accident général ni local.

*Chien gris*. — Toujours 15 cc. sérum.

**Dixième injection** (Le 27 octobre). *Chien tigré* (sa 6<sup>me</sup>). — Ce

chien va très bien. Toutes les ulcérations sont cicatrisées. Il n'y a plus qu'un petit ulcère de la dimension d'une pièce de un franc. Il reçoit 1 cc. sérum et 3/10 de culture de 24 heures par kilogr., soit 12 cc. sérum et 3 cc. 6 culture.

Le 28, T. 38,4-38,2. L'animal est abattu, mange peu. Le 29, 38,2-38,4. Le 30, 38,9-38. De nouvelles ulcérations se forment. Le 21, 38,2-38,5. L'animal présente à la cuisse trois ulcérations grandes comme des pièces de 50 centimes, qu'il lèche constamment. Cet état persiste pendant plusieurs jours. Le 6, l'œdème est très diminué, les ulcérations bien réduites. Le 7, T. 38,6-38,7. Il n'y a plus d'œdème et les ulcérations sont presque cicatrisées. Enfin, le 11, on fait une *saignée* d'environ 20 centimètres cubes à la veine de la patte gauche postérieure.

*Chien jaune.* — On double la dose de toxine. Cet animal reçoit donc : 1 cc. sérum additionnée de 2 cc. toxine par kil., soit 11 cc. sérum et 22 cc. toxine.

Il n'y a rien à signaler dans la suite. L'animal reste très gai, ne présente pas d'hyperthermie.

Le 11, *saignée* d'environ 20 cc. à la veine de la patte.

*Chien noir.* — La dose de toxine est réduite par crainte d'accidents. On lui injecte 1,2 cc. toxine + 1/10 cc. de Gram.

Le 28, ce chien est très abattu; il a la patte raide, gonflée, rouge. Il reste couché sur le flanc et paraît assez malade. Le 29, T. 38,3-39,3. Le 30, 39,1-39,3. Le gonflement de la cuisse augmente sensiblement. Le 31, 37,6-39. L'animal est très abattu, ne prend aucune nourriture. Au bout de quelques jours, il devient impossible de prendre la température. Le 7 novembre, *mort* de ce chien, avec une vaste escharre gangréneuse dans la cuisse inoculée. On *recueille du sang* pour étudier sa valeur immunisante.

*Chien gris.* — Reçoit la même dose de sérum que précédemment, soit 15 cc., qu'il supporte très bien.

Le 11 novembre, on lui fait une *saignée* d'environ 20 centim. cubes.

Le tableau suivant résume l'ensemble des injections reçues par ces divers animaux :

| DATES<br>des<br>INJECTIONS | CHIEN TIGRÉ (12 kilos)<br>sérum et culture.                                        | CHIEN JAUNE (11 kilos)<br>sérum et toxine.                                              | CHIEN NOIR (18 kilos)<br>toxine seule.                            | CHIEN GRIS (45 kilos)<br>sérum seul.               |
|----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| 7 septembre.               | 1 cc. sérum par kil.: 2 cc. 8<br>1/10 cc. cult. » : 1 cc. 2<br>Première injection. | 1 cc. sérum par kil.: 11 cc.<br>1/10 cc. tox. par kil.: 1 cc. 10<br>Première injection. | 1/10 cc. toxine.<br>1/10 cc. Gram.<br>Première injection.         | 1 cc. sér. par kil.: 15 cc.<br>Première injection. |
| 11 septembre.              | 4 cc. sérum par kil.: 12 cc.<br>2/10 cc. cult. » : 2 cc. 4<br>Deuxième injection.  | 1 cc. sérum par kil.: 11 cc.<br>2/10 cc. cult. » : 2 cc. 20<br>Deuxième injection.      | 2/10 cc. toxine.<br>1/10 cc. Gram.<br>Deuxième injection.         | 1 cc. sér. par kil. 15 cc.<br>Deuxième injection.  |
| 19 septembre.              | 1 cc. sérum par kil.: 12 cc.<br>3/10 cc. cult. » : 3 cc. 6<br>Troisième injection. | 1 cc. sérum par kil.: 11 cc.<br>4/10 cc. cult. » : 4 cc. 4<br>Troisième injection.      | 3/10 cc. toxine.<br>1/10 cc. Gram.<br>Troisième injection.        | 15 cc.<br>Troisième injection.                     |
| 23 septembre.              | 1 cc. sérum par kil.: 12 cc.<br>4/10 cc. cult. » : 4 cc. 8<br>Quatrième injection. | 1 cc. sérum par kil.: 11 cc.<br>5/10 cc. tox. » : 5 cc. 5<br>Quatrième injection.       | 5/10 cc. toxine.<br>1/10 cc. Gram.<br>Quatrième injection.        | 15 cc.<br>Quatrième injection.                     |
| 30 septembre               | Rien.                                                                              | 1 cc. sérum par kil.: 11 cc.<br>6/10 cc. tox. » : 6 cc. 6<br>Cinquième injection.       | 7/10 cc. toxine.<br>1/10 cc. Gram.<br>Cinquième injection.        | 15 cc.<br>Cinquième injection.                     |
| 5 octobre.                 | Rien.                                                                              | 1 cc. sérum par kil.: 11 cc.<br>1 cc. tox. » : 11 cc.<br>Sixième injection.             | 1 cc. toxine.<br>1/10 cc. Gram.<br>Sixième injection.             | 15 cc.<br>Sixième injection.                       |
| 13 octobre.                | Rien.                                                                              | 1 cc. sérum par kil.: 11 cc.<br>1 cc. 1/2 tox. » : 16 cc. 1/2<br>Septième injection.    | 1 1/2 cc. toxine.<br>1/10 cc. Gram.<br>Septième injection.        | 15 cc.<br>Septième injection.                      |
| 17 octobre.                | 1 cc. sérum par kil.: 12 cc.<br>3/10 cc. cult. » : 3 cc. 6<br>Cinquième injection. | 1 cc. sérum par kil.: 11 cc.<br>2 cc. tox. » : 22 cc.<br>Huitième injection.            | 2 cc. toxine.<br>1/10 cc. Gram.<br>Huitième injection.            | 15 cc.<br>Huitième injection.                      |
| 21 octobre.                | Rien.                                                                              | 1 cc. sérum par kil.: 11 cc.<br>1 cc. tox. » : 11 cc.<br>Neuvième injection.            | 2/10 cc. toxine.<br>1/10 cc. Gram.<br>Neuvième injection.         | 15 cc.<br>Neuvième injection.                      |
| 27 octobre.                | 1 cc. sér. m par kil.: 12 cc<br>3/10 cc. cult. » : 3 cc. 6<br>Sixième injection.   | 1 cc. sérum par kil.: 11 cc.<br>2 cc. tox. » : 22 cc.<br>Dixième injection.             | 1/2 cc. toxine.<br>1/10 cc. Gram.<br>Dixième inj. Mort, le 7 nov. | 15 cc.<br>Dixième injection.                       |
|                            | Le 11 novembre, saignée.                                                           | Le 11 novembre, saignée.                                                                | 7 nov., sang du cœur.                                             | Le 11 novembre, saignée.                           |

Au cours de cette expérience nous voyons, presque dès le début, le chien qui reçoit la toxine nous présenter des réactions manifestes, alors que celui qui reçoit la toxine additionnée de sérum ne présente que des réactions assez légères. Le mélange de sérum et de culture, au troisième chien, détermine, comme nous l'avons vu déjà dans nos expériences II et III, des réactions locales et générales assez marquées. Les choses persistent dans ces conditions pendant les quatre premières injections. A la suite de celles-ci, les accidents développés chez le chien inoculé avec la culture associée au sérum sont telles, que l'on doit suspendre pendant près d'un mois les injections, afin de permettre à l'animal de reprendre un état général et local satisfaisant. Ce chien présente à ce moment de la tuméfaction et du sphacèle au niveau de ses dernières injections; il paraît assez abattu, bien que sa température ne fût pas sensiblement élevée. Pendant ce temps, on peut continuer les injections de *toxine-sérum* ou de *toxine pure*, que les animaux supportent assez bien. On renouvelle, au bout d'une vingtaine de jours, les injections de culture additionnée de sérum, pour les cinquième et sixième injections; cette dernière est faite le 27 octobre.

A cette même date, les trois autres chiens, *sérum-toxine*, *toxine seule* et *sérum seul*, reçoivent leur dixième et dernière injection. En effet, à partir de ce moment, le chien qui reçoit la toxine seule, fortement éprouvé par la dernière inoculation, prend une tuméfaction énorme de la cuisse inoculée avec escharre gangréneuse; la fièvre s'allume, l'état général devient de

plus en plus mauvais, et, enfin, il meurt en hypothermie le 7 novembre.

On recueille, à l'autopsie, du *sang du cœur*, dans le but d'étudier sa valeur antitoxique ou préventive.

Quatre jours après, on fait une *saignée* aux trois autres chiens, pour apprécier comparativement les propriétés qu'ils ont acquises.

En somme, au moment de la cueillette du sang, deux de ces animaux *sérum-toxine* et *sérum seul* ont reçu exactement la même quantité de sérum, soit 10 cc. par kilogramme. Le chien *sérum-culture*, dont les inoculations ont dû être suspendues, n'a reçu que 6 cc. par kilogramme. Le chien à *toxine seule* a reçu 6 cc. 9 de toxine en l'espace d'un mois et demi, alors que le chien *sérum-toxine* a reçu, dans le même temps, 102 cc. 3 de toxine. Enfin, le chien *sérum-culture*, 19 cc. 2 de culture virulente.

On voit donc, qu'à s'en tenir à la dose de toxine supportée par le chien *sérum-toxine*, l'activité de son propre sérum devait être assez marquée. D'ailleurs, les expériences suivantes vont nous renseigner d'une façon précise sur la valeur préventive et antitoxique respective du sérum des quatre chiens de cette expérience.

Nous avons essayé l'action du sérum de chaque animal à l'égard des cultures et à l'égard de la toxine diphtérique. Dans chaque expérience, afin que nos résultats fussent aussi précis que possible, nous avons plusieurs lots d'animaux, composés chacun de deux cobayes. Deux cobayes servant de témoins étaient inoculés uniquement avec une culture virulente de

bacille de Lœffler, ou avec de la toxine. Tous les autres lots recevaient exactement les mêmes doses, soit de culture, soit de toxine, après avoir reçu en injections sous-cutanées, vingt-quatre heures auparavant, une dose variable de  $1/100$  à  $1/30000$  de sérum du chien dont on voulait apprécier la valeur. Nous avons fait ainsi quatre essais successifs avec :

- A. — *Le sérum du chien-toxine pure.*
- B. — *Le sérum du chien-sérum-toxine.*
- C. — *Le sérum du chien-sérum pur.*
- D. — *Le sérum du chien-sérum-culture.*

Chacun de ces essais a été subdivisé en deux parties :

1<sup>o</sup> Valeur préventive à l'égard des cultures virulentes ;

2<sup>o</sup> Valeur préventive à l'égard de la toxine.

Nous rapporterons successivement ces divers essais.

Avec le sérum de chaque chien on fait deux essais :

1<sup>o</sup> Vis-à-vis de cultures virulentes de bacille de Lœffler ;

2<sup>o</sup> Vis-à-vis de la toxine.

#### A. — SÉRUM DU CHIEN-TOXINE PURE.

Le 8 novembre. — Essai vis-à-vis des cultures virulentes de bacille de Lœffler.

On prend dix cobayes qui reçoivent, sauf deux témoins, des quantités de sérum proportionnelles à leur poids.

Le lendemain, tous reçoivent  $1/10$  cc. de culture âgée de 24 h.

A. — Deux cobayes témoins : 1<sup>er</sup> mort en 36 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 24 heures.

B. — Deux cobayes,  $1/100$  : 1<sup>er</sup> mort en 24 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 12 heures.

C. — Deux cobayes, 1/500 : 1<sup>er</sup> mort en 24 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 12 heures.

D. — Deux cobayes, 1/1.000 : 1<sup>er</sup> mort en 36 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 24 heures.

E. — Deux cobayes, 1/5.000 : 1<sup>er</sup> mort en 24 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 36 heures.

Le 8 novembre. — Essai vis-à-vis de la *toxine*.

Quantités proportionnelles de sérum et 1/2 cc. toxine le lendemain.

A. — Deux cobayes témoins : 1<sup>er</sup> mort en 19 jours ; 2<sup>e</sup> mort en 3 jours et demi.

B. — Deux cobayes, 1/100 : 1<sup>er</sup> mort en moins de 12 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 18 heures 1/2.

C. — Deux cobayes, 1/1.000 : 1<sup>er</sup> mort en 60 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 3 jours 1/2.

D. — Deux cobayes, 1/1.000 : 1<sup>er</sup> mort en 63 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 3 jours 1/2.

E. — Deux cobayes, 1/5.000 : 1<sup>er</sup> mort en 5 jours ; 2<sup>e</sup> mort en 3 jours.

## B. — SÉRUM DU CHIEN-SÉRUM-TOXINE.

I. — 10 novembre. — Essai vis-à-vis des *cultures virulentes* de bacille de Lœffler.

On prend huit cobayes, auxquels on injecte, le 10 novembre, des quantités de sérum proportionnelles à leur poids.

Le lendemain, tous ces cobayes, et en plus deux cobayes témoins, reçoivent 1/10 cc. culture de 24 heures.

A. — Deux cobayes témoins : 1<sup>er</sup> mort en 24 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 27 heures.

B. — Deux cobayes, 1/100 : 1<sup>er</sup> mort en moins de 24 heures ; 2<sup>e</sup> mort en moins de 80 heures.

C. — Deux cobayes, 1/500 : 1<sup>er</sup> mort en 24 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 30 heures.

D. — Deux cobayes, 1/1.000 : 1<sup>er</sup> mort en 24 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 80 heures.

E. — Deux cobayes, 1/5.000 : 1<sup>er</sup> mort en 24 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 80 heures.

II. — Le 10 novembre. Essai vis-à-vis de la *toxine*.

Dix cobayes, sauf deux témoins, reçoivent du sérum. Le lendemain, tous reçoivent 1/4 cc. toxine diphtérique.

A. — Deux cobayes témoins : 1<sup>er</sup> mort en 86 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 80 heures.

B. — Deux cobayes, 1/100 : 1<sup>er</sup> mort en 27 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 48 heures.

C. — Deux cobayes, 1/500 : 1<sup>er</sup> mort en 24 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 80 heures.

D. — Deux cobayes, 1/1000 : 1<sup>er</sup> mort en 24 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 80 heures.

E. — Deux cobayes, 1/5000 : 1<sup>er</sup> mort en 80 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 80 heures.

### C. — SÉRUM DU CHIEN-SÉRUM

Le 15 novembre. — Essai vis-à-vis des *cultures* virulentes.

Douze cobayes, recevant des quantités de sérum proportionnelles à leur poids, et le lendemain 1/10 cc. de culture de 24 heures.

A. — Deux cobayes témoins : 1<sup>er</sup> mort en 48 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 36 heures.

B. — Deux cobayes, 1/500 : 1<sup>er</sup> mort en 190 heures ou 7 jours 1/2 environ ; 2<sup>e</sup> mort en 36 heures.

C. — Deux cobayes, 1/1000 : 1<sup>er</sup> mort en 188 heures ou 7 jours 1/2 ; 2<sup>e</sup> mort en 36 heures.

D. — Deux cobayes, 1/5000 : 1<sup>er</sup> mort en 63 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 36 heures.

E. — Deux cobayes, 1/10.000 : 1<sup>er</sup> mort en 40 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 52 heures.

F. — Deux cobayes, 1/30.000 : 1<sup>er</sup> mort en 14 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 40 heures.

Le 15 novembre. — Essai vis-à-vis de la *toxine*.

Douze cobayes reçoivent des quantités de sérum proportionnelles à leur poids, et le lendemain 1/4 cc. toxine.

A. — Deux cobayes témoins : 1<sup>er</sup> mort en 80 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 48 heures.

B. — Deux cobayes, 1/500 : 1<sup>er</sup> mort en 10 jours ; 2<sup>e</sup> mort en 8 jours.

C. — Deux cobayes, 1/1000 : 1<sup>er</sup> a survécu ; 2<sup>e</sup> mort en 8 j. 1/2.

D. — Deux cobayes, 1/5000 : 1<sup>er</sup> mort en 44 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 5 jours 3 <sup>1</sup>/<sub>4</sub>.

E. — Deux cobayes, 1/10 000 : 1<sup>er</sup> mort en 5 jours ; 2<sup>e</sup> mort en 44 heures.

E. — Deux cobayes, 1/30.000 : 1<sup>er</sup> mort en 48 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 72 heures.

#### D. — SÉRUM DU CHIEN-SÉRUM-CULTURE

12 novembre. — Essai vis-à-vis des *cultures*.

Huit cobayes reçoivent des quantités de sérum proportionnelles à leur poids, et le lendemain 1/10 cc. culture.

A. — Deux cobayes témoins : 1<sup>er</sup> mort en plus de 24 et moins de 36 heures ; 2<sup>e</sup> mort en plus de 24 et moins de 36 heures.

B. — Deux cobayes, 1/500 : 1<sup>er</sup> mort en plus de 24 et moins de 36 heures ; 2<sup>e</sup> mort en plus de 24 et moins de 36 heures.

C. — Deux cobayes, 1/1.000 : 1<sup>er</sup> mort en 22 heures ; 2<sup>e</sup> mort en plus de 24 et moins de 36 heures.

D. — Deux cobayes, 1/10.000 : 1<sup>er</sup> mort en 24 heures ; 2<sup>e</sup> mort en plus de 24 et moins de 36 heures.

E. — Deux cobayes, 1/30.000 : 1<sup>er</sup> mort en 22 heures ; 2<sup>e</sup> mort en plus de 24 et moins de 36 heures.

22 novembre. — Essai vis-à-vis de la *toxine*.

Quantités proportionnelles de sérum et 1/4 cc. toxine à chacun le lendemain.

A. — Deux cobayes témoins : 1<sup>er</sup> mort en 5 jours ; 2<sup>e</sup> mort en plus de 24 et moins de 36 heures.

B. — Deux cobayes, 1/500 : 1<sup>er</sup> mort en plus de 24 et moins de 36 heures ; 2<sup>e</sup> mort en plus de 24 et moins de 36 heures.

C. — Deux cobayes, 1/1.000 : 1<sup>er</sup> mort en plus de 36 et moins de 48 heures ; 2<sup>e</sup> mort en plus de 24 et moins de 36 heures.

D. — Deux cobayes, 1/10.000 : 1<sup>er</sup> mort en 42 heures ; 2<sup>e</sup> mort en 45 heures 1/2.

E. — Deux cobayes, 1/30.000 : 1<sup>er</sup> mort en 42 heures environ ; 2<sup>e</sup> mort de 48 à 60 heures.

Nous pouvons résumer très brièvement les faits réunis dans les quatre essais précédents.

Le sérum du chien, dont on avait tenté l'immunisation avec la toxine pure n'a eu aucune action préventive ni antitoxique. Il semblerait même plutôt que les doses élevées de ce sérum aient hâté la mort des cobayes, du moins en ce qui concerne l'essai à l'égard de la toxine. Il devrait en être ainsi *a priori*, car si le chien qui a fourni ce sérum avait été immunisé à quelque degré que ce soit, il n'aurait pas succombé à cette dernière inoculation de toxine.

Le sérum du chien ayant reçu les injections simultanées de toxine et d'antitoxine ne paraît pas avoir eu de valeur préventive ni antitoxique plus élevée. Il en est de même du sérum de celui pour lequel on avait associé l'antitoxine aux cultures.

Seuls les cobayes, à qui on avait donné des doses variant de 1/500 à 1/30.000 de sérum du chien auquel on avait fait des injections exclusives d'antitoxine, a paru présenter un léger degré de pouvoir préventif et d'antitoxicité, au moins aux doses les plus élevées, de 1/500 jusqu'à 1/5.000 ou 1/10 000. A 1/30.000 déjà il s'est montré sans action.

De tout cet ensemble de faits il ressort, avec évidence, que l'association du sérum antidiphthérique aux cultures ou aux toxines dans le but de hâter et de favoriser le

développement de l'immunité active chez les animaux est absolument sans valeur. Les animaux ainsi traités n'acquièrent qu'une immunité à peu près nulle, ou du moins extrêmement faible, et leur sérum n'a par suite qu'une action préventive ou antitoxique insignifiante, sensiblement moindre, dans tous les cas, que celle du sérum des animaux imprégnés seulement d'antitoxine.

Peut-on trouver une explication raisonnable de ces faits ? Comment se produisent et s'enchainent les phénomènes que nous avons observés, et qui ne semblent pas d'accord avec les propositions émises par M. Babès ? C'est ce que nous allons tenter d'élucider dans le chapitre suivant.

## CHAPITRE V

### Critique et discussion.

Nous en avons fini avec l'exposé des expériences que nous avons entreprises pour arriver à la solution du problème que nous nous étions proposé au début de ce travail. Pouvons-nous maintenant, en toute connaissance de cause, répondre à cette question précise qui, en somme, avait été posée par M. Babès? L'adjonction de sérum antidiphthérique aux cultures virulentes de bacille de Lœffler ou aux toxines sécrétées par cet agent pathogène, ou, en d'autres termes, l'emploi simultané de toxine et d'antitoxine en injections sous-cutanées chez les animaux fournit-il un moyen rapide de produire chez ces derniers une immunité suffisante?

La réponse est embarrassante, car on peut envisager les choses à un double point de vue.

Evidemment, le sérum antidiphthérique nous donne un moyen de faire supporter rapidement, et à peu près impunément, aux animaux, des doses considérables de poison. Il leur confère ainsi une immunité *purement passive* que tout le monde admet à l'heure actuelle, et sur laquelle d'ailleurs est basé l'usage de la sérothérapie.

Mais cette manière d'agir permet-elle de conférer aux animaux une immunité assez élevée, une immunité *active*, grâce à l'action des toxines ou des cultures dont les propriétés nocives auraient été rendues inoffensives par l'antitoxine? Nous ne le croyons pas, et toutes les expériences précédentes semblent bien plaider en faveur de cette négative. Nous reconnaissons, certainement, qu'en général le sérum des animaux qui ont été ainsi traités possède une action préventive ou antitoxique légère; c'est ce qu'avait bien vu M. le professeur Bibès, et c'est à cela qu'il faut borner son affirmation.

Mais nous ne croyons pas que l'on puisse trouver, dans l'emploi de cette méthode, un moyen plus favorable que ceux employés jusqu'à ce jour pour obtenir que des animaux fournissent plus rapidement un sérum thérapeutique convenable.

La question doit rester encore en suspens. Peut-être même que les résultats obtenus jusqu'à cette heure doivent faire pencher plutôt pour la négative.

Si nous jetons un coup d'œil d'ensemble sur les expériences précédemment rapportées, ce qui nous frappe au premier abord, c'est que tous les animaux qui, au cours des expériences relatées dans le chapitre III, avaient pu, grâce au sérum antidiphthérique, supporter des doses très considérables de toxines ou de cultures, ont présenté, aussitôt après la suppression du sérum et dès qu'ils ont été sous l'influence du poison ou du microbe, des accidents plus ou moins graves.

De plus, lorsque, soit dans cette expérience, soit

dans celle rapportée au chapitre IV, nous avons voulu rechercher quelle était l'activité du sérum de l'animal ainsi immunisé (chien ou ânesse), nous l'avons toujours trouvée ou très faible ou presque nulle. Et cependant des animaux qui auraient été capables de supporter des quantités équivalentes de toxine diphtérique ou de cultures sans l'intervention de l'antitoxine, auraient, sans nul doute, présenté un sérum beaucoup plus actif.

Autre considération plus importante : dans toutes celles de nos expériences où nous avons pris soin de donner à un animal des doses d'antitoxine équivalentes à celles que recevaient les chiens inoculés simultanément avec le poison diphtérique ou avec les cultures du bacille de Loeffler, cet animal nous a fourni un sérum dont l'activité s'est constamment montrée supérieure à celle des autres animaux.

Ce fait est des plus suggestifs, et c'est lui qui doit nous donner la clef de la contradiction apparente qui semble exister entre M. Babès et nous, et en même temps peut-être nous donner la raison pour laquelle une telle méthode d'immunisation ne nous paraît pas avoir d'avenir.

M. Babès a vu que le sérum de lapins, à qui il avait injecté de l'antitoxine et de la toxine, avait acquis assez rapidement un certain pouvoir antitoxique. C'est vrai. Mais, à notre avis, et d'après les résultats obtenus par nous, l'interprétation des faits doit être un peu différente de celle qu'en a donnée cet auteur. Si le sérum de ces lapins est devenu antitoxique, c'est, disons-nous, non pas parce que ces lapins ont pu sup-

porter, grâce à l'antitoxine, des doses de produits solubles mortelles dans les circonstances ordinaires, et qui, dans ce cas, ont amené chez eux l'immunité, mais simplement grâce à l'antitoxine injectée, qui a diffusé dans l'organisme du lapin ses qualités propres. Et ceci n'est pas une simple vue de l'esprit, puisque cette explication est corroborée de la façon la plus formelle par la comparaison de l'activité du sérum de nos animaux ayant reçu de l'antitoxine pure avec le sérum de ceux qui avaient reçu le mélange.

En somme, et pour résumer en une brève proposition, notre pensée à ce sujet, nous dirons que la méthode préconisée par M. Babès ne confère aux animaux que la *seule immunité passive*, résultant de l'introduction de l'antitoxine dans l'organisme, et à aucun degré, ou du moins à un degré extrêmement minime, l'*immunité active* de celle-ci, résultant de l'action de la toxine diphtérique ou des cultures virulentes du bacille de Loeffler.

Nous irons même plus loin, et nous nous croirons autorisé à émettre une hypothèse qui, elle aussi, trouve une base solide dans l'activité du sérum des animaux qui ont reçu le mélange, comparée à celle du sérum des animaux inoculés avec l'antitoxine. C'est que toxine et antitoxine, culture et antitoxine doivent probablement annuler réciproquement et partiellement leur action. Cela semble bien un corollaire logique de la différence d'activité que l'on trouve entre ces sérums.

En somme, la conclusion qui s'impose est la suivante : que par la méthode d'association du sérum aux cultures ou aux toxines on peut bien conférer aux

animaux une certaine immunité; mais elle paraît être sous la dépendance bien plus du sérum que de la toxine; l'action du sérum antidiphthérique, en rendant l'organisme plus ou moins réfractaire aux effets de la toxine ou du bacille, le rend par cela même plus ou moins inapte à fabriquer pour son propre compte des antitoxines ou des substances préventives en fonction de la toxine ou des bacilles; par conséquent, nous ne croyons pas qu'on puisse ériger cette association en méthode pratique d'immunisation des animaux, permettant d'obtenir rapidement et sans danger des sérums thérapeutiques d'accès d'une activité suffisante.

Enfin, nous répétons à nouveau que le léger degré d'immunité obtenu en pareil cas et vu par M. Babès est simplement le fait de l'introduction d'une certaine quantité d'antitoxine dans l'économie des animaux en expérience.

---



## CONCLUSIONS

---

1° Les accidents, graves ou mortels, que l'on peut observer actuellement au cours de l'immunisation des animaux contre la diphtérie rendraient utile la découverte d'une méthode permettant d'obtenir sans danger les mêmes résultats. La longue durée que nécessite l'immunisation complète d'un animal est aussi un inconvénient qu'il serait bon de pouvoir éviter;

2° L'association du sérum antidiphtérique à la toxine, ou aux cultures, bien que permettant l'usage de doses très élevées de ces dernières, ne semble pas permettre d'arriver à produire chez les animaux une immunité assez grande pour l'obtention d'un sérum antitoxique ou préventif, doué d'une activité suffisante;

3° Cette association, des toxines et des antitoxines détermine chez les animaux un très léger degré d'immunité, qui paraît être surtout en rapport avec l'in-

troduction de l'antitoxine dans l'économie, et non avec celle de la toxine ou de la culture virulente. On produit ainsi une *immunité passive* et non une *immunité active*;

4° On ne peut pas espérer, pour le moment, ériger l'emploi de l'association précitée à la hauteur d'une méthode générale d'immunisation des animaux et de préparation du sérum antidiphthérique.

Vu : *Le Président de la thèse,*

ARLOING.

Vu : *Le Doyen,* . . .

LORTET.

Vu et permis d'imprimer,

Lyon, le 4 décembre 1899.

*Le Recteur,*

Président du Conseil de l'Université,

Gabriel COMPAYRÉ.

---

## BIBLIOGRAPHIE

- ARLOING. — Sérothérapie et Diphtérie. Disc. pron. à l'Acad. des Sc., Arts et B.-L. de Lyon, 1895.
- BABÈS. — Académie de Méd., 1895 et Roumanie Médicale, 1899.
- BEHRING et KITASATO. — Deutsche Med. Wochensch., 1890.
- BERLINÈR. — Klin Wochensch, 1890-1893.
- COURMONT et DOYON. — Arch. de Physiologie 1895.
- KOUDREVETSKI. — Arch. Méd. Expér., nov. 1893.
- RICHEL. — Arch. Méd. Expér., 1886.
- TOUSSAINT. — Sur la Maladie Charbonneuse, 1879.









